

**THESE DE DOCTORAT DE
L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE**

Spécialité : **Physique**
Ecole doctorale : **Physique, de la particule à la matière condensée**

Présentée par

Mr.Olivier Delage

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR de l'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Sujet de la thèse :

Imagerie neutronique pour la fusion par confinement inertiel et imagerie optique moléculaire

Soutenue le 7 décembre 2010

devant le jury composé de :

Mr. Pierre Encrenaz	Président du jury
Mr. Jean Hare	Président de l'école doctorale
Mme. Elisabeth Dalimier	Directrice de thèse
Mr. Eric Bittar	Rapporteur
Mr. Benoît Canaud	Rapporteur
M.Jean-Christophe Olivo-Marin	Examineur

Université Pierre & Marie Curie - Paris 6
Bureau d'accueil, inscription des doctorants et base de données
Esc G, 2^{ème} étage
15 rue de l'école de médecine
75270-PARIS CEDEX 06

Tél. Secrétariat : 01 42 34 68 35
Fax : 01 42 34 68 40
Tél. pour les étudiants de A à EL : 01 42 34 69 54
Tél. pour les étudiants de EM à MON : 01 42 34 68 41
Tél. pour les étudiants de MOO à Z : 01 42 34 68 51
E-mail : scolarite.doctorat@upmc.fr

Sujet : Dimensionnement et caractérisation de dispositifs d'imagerie optique dédiés à l'étude d'objets de petites dimensions et faiblement émissifs.
Application aux plasmas FCI et aux milieux biomoléculaires.

Mots Clefs : FCI, Imagerie Moléculaire, Imagerie Neutronique, Imagerie Optique, Neutronique, Séparation de sources, Analyse en composantes principales, Analyse multirésolution.

Résumé:

Les domaines scientifiques, nécessitant l'imagerie d'objets de petites dimensions (micrométriques voire nanométriques) et peu émissifs, sont de plus en plus nombreux (physique des plasmas, astrophysique, physique des matériaux, biotechnologies,...) et les challenges posés par l'étude de ces objets en font un axe de recherche et de développement en constante évolution. Le travail présenté dans ce document a un objectif double : présenter les spécificités de l'instrumentation associée à ce domaine de recherche ainsi que les facteurs susceptibles d'améliorer la précision des systèmes d'imagerie ; présenter les techniques numériques d'analyse de données et de reconstruction capables de restituer des résolutions spatiales en adéquation avec les dimensions de l'objet étudié. La similitude des algorithmes d'analyse de données et de reconstruction appliqués à la fusion par confinement inertiel et à l'imagerie moléculaire de fluorescence, deux domaines scientifiques dont les enjeux sont très différents, montre combien l'imagerie d'objets de petites dimensions est un domaine de recherche à la frontière d'un grand nombre de disciplines scientifiques.

Abstract:

Scientific domains that require imaging of micrometric/nanometric objects are dramatically increasing (Plasma Physics, Astrophysics, Biotechnology, Earth Sciences...). Difficulties encountered in imaging smaller and smaller objects make this research area more and more challenging and in constant evolution. The two scientific domains, through which this study has been led, are the neutron imaging in the context of the inertial confinement fusion and the fluorescence molecular imaging. Work presented in this thesis has two main objectives. The first one is to describe the instrumentation characteristics that require such imagery and, relatively to the scientific domains considered, identify parameters likely to optimize the imaging system accuracy. The second one is to present the developed data analysis and reconstruction methods able to provide spatial resolution adapted to the size of the observed object. Similarities of numerical algorithms used in these two scientific domains, which goals are quite different, show how micrometric/nanometric object imaging is a research area at the border of a large number of scientific disciplines.

Remerciements

Je remercie :

Madame Elisabeth Dalimier pour avoir accepté d'être ma directrice de thèse.

Mesdames France Uebersfeld et Elisabeth Dalimier pour leurs conseils et leurs soutiens constants au cours de ma démarche VAE.

Monsieur Jean Hare pour m'avoir permis de présenter cette thèse au sein de son école doctorale.

Monsieur Pierre Encrenaz pour avoir accepté d'être président de mon jury.

Messieurs Benoit Canaud et Eric Bittar qui ont accepté d'être rapporteurs de cette thèse, messieurs Jean-Christophe Olivo-Marin et Thierry Massard pour l'intérêt qu'ils ont porté à mes travaux.

Tous les membres du jury, pour le soin qu'ils ont porté à la lecture du manuscrit, et pour les remarques constructives qui ont contribué à l'améliorer.

Un grand merci à Monsieur Claude Secroun pour sa gentillesse et son aide très précieuse.

Je remercie également messieurs Eric Benso et Jean Paul Jadaud pour leurs remarques constructives.

Je remercie madame Michelle De Cornuaud pour son assistance en matière de rédaction
Je voudrais remercier d'une manière toute particulière monsieur Alain Bourdier pour son écoute, ses conseils et le soutien moral qu'il m'a apporté tout au long de cette démarche, messieurs Gérard Simon et Jean-Noël Oeconomos pour l'intérêt qu'ils m'ont porté, ainsi que pour leurs soutiens et leurs gentillesse.

Je voudrais remercier la femme que j'aime, pour sa patience, ses conseils en matière de rédaction, sa disponibilité et son écoute et surtout parce qu'à travers cette démarche, elle m'a aidé à avancer.

Pour terminer, un très grand merci à ma mère et ma sœur ainsi qu'à tous mes amis sans oublier Thao Lê, Thierry Jalinaud, Jean Pierre Bruhat, Pierre Duperray, Jean-marie Clarisse, Emile Le Maux, Philippe Troussel, Jean-Noël Richet, etc

*Le commencement de toutes les sciences, c'est l'étonnement de ce
que les choses sont ce qu'elles sont.*
Aristote

*A Pascale que j'aime de tout mon cœur
A ma petite maman et ma sœur Carole*

Tables des matières

I- Introduction générale.....	10
I-1 Contexte et motivations.....	10
I-2 Contributions de la thèse	11
I-3 Structure du document.....	12
II- L'imagerie neutronique pour les plasmas FCI et l'imagerie optique moléculaire in vivo : deux techniques incontournables.	13
II-1 Rappels sur la fusion par confinement inertielle et la nécessité du diagnostic d'imagerie	13
II-1-1 Objectifs et enjeux de la fusion thermonucléaire.....	13
II-1-2 Le schéma de la FCI.....	15
II-1-3 Les différentes installations en France et dans le monde.....	20
II-1-3-1 La FCI en France. Etat des lieux.....	20
II-1-3-2 La FCI dans le monde ; Etat des lieux.....	20
II-1-3-3 Les grands projets de FCI par laser	21
II-1-4 Les diagnostics plasma FCI	21
II-1-5 Les mesures neutroniques. L'imagerie neutronique.....	22
II-2 L'imagerie moléculaire pour les diagnostics médicaux et la recherche médicale	24
II-2-1 Objectifs et enjeux	24
II-2-2 Les moyens d'investigation en imagerie moléculaire	25
II-2-2-1 La tomodensitométrie (scanner X)	25
II-2-2-2 L'imagerie par résonance magnétique (IRM)	26
II-2-2-3 L'imagerie nucléaire : La tomographie par émission de positons (TEP).....	29
II-2-2-4 Les techniques photoniques. L'imagerie optique moléculaire.....	31
II-2-3 L'imagerie optique chez le petit animal.....	40
II-2-3-1 Les modèles animaux en recherche biomédicale.....	40
II-2-3-2 Les contraintes et les limitations de l'imagerie optique chez le petit animal.....	40
II-2-4 Les technologies existantes en imagerie optique moléculaire.....	42
III Les techniques d'imagerie utilisées en FCI et en imagerie moléculaire.	46
III-1 Position du problème	46
III-1-1 La technique d'imagerie neutronique utilisée dans le cadre de la FCI.....	46
III-1-2 La technique d'imagerie utilisée dans le cadre de l'imagerie	

moléculaire de fluorescence.....	47
III-2 L'imagerie neutronique dans le cadre de la FCI.....	47
III-2-1 Le concept d'imagerie pénombre.....	47
III-2-1-1 L'imagerie de pénombre	47
III-2-1-2 Les spécificités du dispositif expérimental requis.....	48
III-2-2 La formation de l'image. Le codage de l'information.....	49
III-2-3 Le rapport signal sur bruit.....	50
III-2-4 La résolution spatiale. Les paramètres limitatifs	52
III-2-4-1 Les caractéristiques de l'ouverture. Impact sur la résolution Spatiale	52
III-2-4-2 La quantité d'information au niveau du détecteur	59
III-2-4-3 Le processus de détection	61
III-2-5 Détermination de la résolution spatiale fournie par le dispositif Expérimental.....	61
III-2-6 Le système de détection enregistrement	62
III-2-6-1 Le système de détection existant. Evaluation de la sensibilité moyenne. La limite expérimentale.....	62
III-2-6-2 Optimisation du système de détection enregistrement	63
III-2-7 Dimensionnement du dispositif expérimental. Application aux installations OMEGA (LLE-USA) et LMJ (CEA-France).....	64
III-2-7-1 Installation OMEGA (LLE-USA).....	65
III-2-7-2 Installation LMJ (CEA-France).....	66
III-3 L'imagerie optique in vivo dans le cadre de l'imagerie moléculaire	68
III-3-1 La propagation des photons dans les tissus vivant	68
III-3-1-1 Propriétés optiques des tissus	68
III-3-1-2 L'équation de la diffusion	68
III-3-2 Les éléments dimensionnant en imagerie optique moléculaire.....	72
III-3-2-1 Les caractéristiques de la zone d'émission en surface	74
III-3-2-2 L'intensité du signal détecté.....	75
III-3-3 Estimation de la résolution spatiale	76
III-3-4 Application aux dispositifs de la gamme IVIS commercialisés par la société XENOVEN (USA).....	78
III-3-4-1 Nombres de cellules bioluminescentes.....	79
III-3-4-2 Nombres de cellules fluorescentes	80
IV- Les méthodes de correction et de reconstruction d'images développées en imagerie neutronique.	81
IV-1 Les prétraitements appliqués à l'image expérimentale brute	81
IV-1-1 Suppression de l'effet de grille.....	81
IV-1-2 Corrections géométriques	83
IV-1-3 Corrections photométriques	83
IV-1-4 Débruitage	84

IV-1-5 Résultats expérimentaux corrigés des effets induits par le système d'imagerie	85
IV-2 Les méthodes numériques pour la reconstruction de la source dans le plan objet.....	87
IV-2-1 Les méthodes existantes.....	87
IV-2-1-1 Le filtre de Nugent	87
IV-2-1-2 Le pseudo filtre de Wiener	88
IV-2-2 Les méthodes développées	89
IV-2-2-1 Le filtre de Wiener homomorphique	89
IV-2-2-2 Le filtre de Wiener adaptatif	90
IV-2-2-3 Le filtre de Richardson-Lucy.....	91
IV-3 Comparaisons des différentes méthodes et validité des résultats.....	93
IV-3-1 Comparaison des méthodes de reconstruction.....	93
IV-3-2 Application à l'imagerie neutronique.....	95
IV-4 SIRINC : Un outil numérique d'aide à l'optimisation du diagnostic d'imagerie neutronique	99
IV-4-1 Objectifs.....	99
IV-4-2 Description et limitations de la version actuelle.....	100
IV-4-3 Résultats obtenus.....	101
IV-4-3-1 Résultats obtenus sur des images tests	101
IV-4-3-2 Résultats obtenus sur des images expérimentales.....	103
V- Les méthodes d'analyse développées en imagerie optique Moléculaire	107
V-1 Les objectifs. Les facteurs limitatifs	107
V-2 Les solutions envisagées	107
V-3 L'imagerie spectrale	107
V-3-1 Similitude avec les méthodes numériques utilisées en imagerie Neutronique.....	107
V-3-2 Modélisation du problème de séparation de sources.....	108
V-3-3 Le modèle linéaire et les méthodes d'analyse numérique associées.....	109
V-3-3-1 Les algorithmes d'inversion considérés.....	111
V-3-3-2 Les méthodes existantes : La décomposition en valeurs singulières (DVS), la factorisation en matrices non négatives (FMN).....	111
V-3-3-3 Optimisation. Les méthodes développées: l'analyse multi résolution et son couplage avec la DVS et la FMN.....	115
V-4 Résultats et discussion.....	118
V-4-1 Rappel des objectifs et description des expériences d'imagerie optique de fluorescence	118
V-4-2 Analyse des résultats expérimentaux.....	125

V-4-2-1 Localisation et quantification du marqueur GFP	126
V-4-2-2 Localisation et quantification du marqueur DsRed.....	128
V-5 Comparaison avec les méthodes numériques de reconstruction développées en imagerie neutronique	134
VI- Conclusion et perspectives	136
VII- Bibliographie.....	139
VII-1 Fusion par confinement inertiel	139
VII-2 Imagerie moléculaire	141
VIII- Annexes	144
VIII-A La FCI en France et dans le monde	145
VIII-B Les projets de FCI par Laser	147
VIII-C Le phénomène de la fluorescence retardée	149
VIII-D Les quantum dots : caractéristiques et utilisation	150
VIII-E Faisabilité et définition d'une plateforme multimodale dédiée à imagerie cérébrale du petit animal, utilisant l'imagerie optique de fluorescence couplée à l'IRM, au GIP CYCERON.....	152
VIII-F Imagerie de pénombre. Algorithme de Nugent.....	169
VIII-G L'analyse en composantes principales et son utilisation dans le problème de la séparation de sources	173

I- Introduction générale

I-1 Contexte et motivations

Plusieurs domaines scientifiques (Physique des plasmas, Astrophysique, Biotechnologie, Recherche médicale...) étudient des phénomènes physiques nécessitant l'imagerie d'objets de petites dimensions (micrométriques voir nanométriques). Le moyen le plus fréquemment utilisé est de faire en sorte que l'(s) objet(s) étudié(s) puisse(nt) émettre un signal ou un rayonnement. La détection et l'analyse de ce signal, à partir de détecteurs segmentés, permettra de caractériser de tels objets, c'est-à-dire d'obtenir des informations sur leur forme, leur taille, leur composition, leur densité, etc. Les caractéristiques du signal émis, le type d'information que l'on veut extraire de l'objet étudié, ainsi que les précisions avec lesquelles on souhaite les obtenir, vont nécessiter le développement de dispositifs expérimentaux et de techniques mathématiques ayant des spécificités particulières.

Alors que les dispositifs d'imagerie traditionnelle fournissent des informations sur la forme et la taille des objets observés, dans certains domaines, le chercheur ou l'ingénieur a besoin d'informations plus précises telles que la composition ou la densité de certains objets. Le spectre étant la signature des atomes ou des molécules, tout ou partie de celui-ci sera nécessaire pour « cartographier » une espèce atomique ou moléculaire répartie dans un certain milieu. Un exemple simple nous est fourni en astrophysique : en regardant à l'aide d'un télescope une nébuleuse à travers un filtre interférentiel centré sur la raie H_α de l'hydrogène atomique, on voit directement les régions contenant de l'hydrogène atomique excité. Ce cas est particulièrement simple car l'identification de H ne nécessite qu'un élément spectral. Très souvent, comme dans le cas de la caractérisation du milieu interstellaire, c'est tout un domaine spectral qu'il faudra analyser en chaque pixel et à plus haute résolution que celle donnée par le filtre interférentiel. Il faut alors concevoir un dispositif d'imagerie spécifique : l'imageur spectral. Outre l'astrophysique, cette technique concerne les biotechnologies et notamment la détection et la localisation de marqueurs optiques à l'intérieur d'organismes vivants.

Les deux domaines d'application abordés dans ce document traitent d'objets micrométriques dont l'émission présente les particularités d'être faible et dégradée par du bruit dépendant du signal.

Le premier domaine concerne la fusion par confinement inertiel (FCI) dont le principe consiste à produire un nombre suffisant de réactions thermonucléaires, en comprimant par plusieurs faisceaux laser une cible sphérique remplie d'un mélange de deutérium tritium (DT). La finalité du dispositif d'imagerie développé dans ce cadre est de restituer la forme et la distribution d'intensité du cœur. Il doit être notamment capable de localiser avec précision les points chauds à l'intérieur de la zone de fusion. La technique d'imagerie mise au point utilise l'émission neutronique de 14 MeV de la cible comprimée qui constitue un bon indicateur pour caractériser le rendement de la cible. L'émission neutronique sera optimisée grâce aux très hautes résolutions spatiale et temporelle obtenues.

Le deuxième domaine concerne l'imagerie optique moléculaire in vivo. L'approche expérimentale vise à identifier les processus biologiques impliqués dans une pathologie spécifique, à comprendre le rôle de ces processus et à caractériser le développement d'une maladie et l'effet d'agents pharmaceutiques. L'exploration et la compréhension de

ces processus impliquent la connaissance d'informations couvrant plusieurs échelles de temps et d'espaces, et nécessitent le développement de techniques spécifiques d'imagerie et de marquage. Ces techniques doivent conduire à une instrumentation de haute sensibilité et de hautes résolutions spatiale et temporelle. Les avancées technologiques récentes en optique, ainsi que le développement de marqueurs fluorescents biocompatibles émettant dans le proche infra rouge [700, 900] nm répondent à ces exigences. De plus, la compréhension des interactions lumière-tissu biologique, permet des performances appréciées en biologie et en instrumentation médicale.

I-2 Contributions de la thèse

Le travail présenté comporte deux volets. Le premier s'attache à identifier et à ajuster les paramètres liés au dimensionnement et à la caractérisation du dispositif expérimental d'imagerie (imagerie neutronique ou imagerie optique moléculaire) en termes de résolution, de manière à ce qu'il puisse fournir les précisions souhaitées. Le deuxième volet concerne le développement et la mise au point de techniques mathématiques capables d'une part, d'extraire le maximum d'informations utiles à partir de l'image brute fournie par le dispositif d'imagerie, d'autre part, d'assurer la transposition de l'image dans le plan objet. Pour chacun des volets, les deux domaines choisis présentent des similitudes de problématiques notamment en ce qui concerne les méthodes numériques de reconstruction. Cependant les différences seront analysées avec précision.

Dans le cas de la FCI, une imagerie classique par sténopé ne peut être utilisée car le libre parcours des neutrons de 14MeV nécessite de réaliser le sténopé dans un matériau lourd et épais, ce qui est technologiquement difficile. L'approche choisie est l'imagerie de pénombre qui est une technique d'ouverture codée, utilisant un diaphragme épais de diamètre plus grand que la source. Cette technique a permis de restituer l'image de la zone de fusion avec de très hautes résolutions. Les travaux de recherche présentés dans ce travail pour l'imagerie neutronique, concernent la caractérisation de l'ouverture codée, la caractérisation et l'optimisation du dispositif de détection et d'enregistrement, ainsi que les méthodes d'analyse de données et de reconstruction d'images qui ont conduit au développement et la réalisation d'un dispositif performant. L'optimisation avec des ouvertures codées de type biconique ou multi conique symétrique est soulignée. L'extraction du signal utile est assurée par l'utilisation d'une décomposition en ondelettes, couplée à un seuillage non linéaire des coefficients d'ondelettes par la méthode de DONOHO. La reconstruction de la source dans le plan objet est assurée par un filtre de Wiener adaptatif dont la fréquence de coupure est localement ajustée en fonction du rapport signal sur bruit spectral.

Les développements présentés dans le cadre de l'imagerie optique moléculaire in vivo concernent l'imagerie de fluorescence. L'émission de photons du marqueur fluorescent est alors déclenchée par une source d'excitation extérieure. On verra que les limitations de cette technique sont essentiellement la résolution spatiale, due au cône de diffusion des photons dans les tissus vivants, et le signal d'auto-fluorescence qui limite la sensibilité du système et ajoute une dégradation supplémentaire. Pour pallier cette limitation de la résolution spatiale, on a recours à l'imagerie spectrale, de manière à accroître la quantité d'informations. Les données spectrales mesurées se composent alors d'une série d'images du même champ d'observation, chacune d'entre elles correspondant à une longueur d'onde spécifique. Un des volets de l'analyse spectrale effectuée sur ces données consiste à identifier, localiser et quantifier les différents

éléments présents dans le champ d'observation en fonction de leurs signatures spectrales. On peut ainsi séparer l'information utile du bruit d'auto fluorescence, mais aussi localiser et quantifier les différents marqueurs présents au moment de l'observation. Les travaux analysés dans ce document concernent la caractérisation de tels systèmes ainsi que les techniques de séparation de sources basées sur l'analyse spectrale.

I-3 Structure du document

Le mémoire de synthèse s'articule sur trois grandes parties.

La première partie (chapitre II) a pour but de situer l'imagerie neutronique et son importance dans le contexte de la FCI ainsi que l'imagerie moléculaire de fluorescence in vivo dans le cadre de l'imagerie moléculaire. Concernant la FCI, sont rappelés les objectifs et les enjeux de la fusion thermonucléaire, l'approche de la FCI, le rôle des diagnostics plasma et la nécessité de l'imagerie neutronique pour caractériser la zone de fusion et le rendement de la réaction. Pour l'imagerie optique moléculaire in vivo, un état des lieux est donné sur les applications et les impacts dans le domaine médical, les différents moyens d'investigation utilisés, la place prépondérante occupée par les techniques photoniques et notamment les avantages et les contraintes de l'imagerie optique de fluorescence in vivo quand elle est appliquée chez le petit animal.

La deuxième partie représentée par le chapitre III, décrit les techniques d'imagerie avec leurs spécificités, ainsi que la caractérisation et l'optimisation des dispositifs spécifiques développés respectivement pour l'imagerie neutronique dans le cadre des diagnostics plasmas FCI, et pour l'imagerie de bioluminescence et de fluorescence dans le cadre de l'imagerie optique moléculaire in vivo. Dans les deux domaines d'application, la résolution spatiale et la quantité d'informations sont les deux paramètres clés de la caractérisation et l'optimisation du dispositif.

La troisième partie est développée dans les chapitres IV et V qui décrivent l'ensemble des techniques d'analyse de données et de reconstruction utilisées respectivement pour chacun des deux domaines. Le fait que le rayonnement détecté soit différent suivant le domaine d'application considéré, les neutrons de 14MeV pour la FCI et les photons de quelques eV pour l'imagerie optique moléculaire, implique que les méthodes numériques utilisées dans l'un et l'autre de ces domaines soient, malgré leurs similitudes, décrites dans deux chapitres différents. Les méthodes numériques concernant l'imagerie neutronique sont regroupées dans le chapitre IV, celles concernant l'imagerie optique chez le petit animal sont regroupées dans le chapitre V. Dans les deux cas elles ont pour objectif d'améliorer la résolution spatiale afin d'observer des objets encore plus petits. Les méthodes numériques qui existaient pour l'imagerie neutronique permettaient de reconstruire des zones de fusion de l'ordre de 150 μ m. Les nouvelles méthodes présentées ici utilisant l'analyse multi résolution permettent de reconstruire des zones de fusion de l'ordre de 40 μ m. Dans le cadre de l'imagerie optique moléculaire, un des facteurs limitatifs est la résolution spatiale due à la nature diffusive des photons. Les nouvelles méthodes d'imagerie spectrale développées dans ce mémoire ont permis d'atteindre des résolutions spatiales de l'ordre de la vingtaine de microns.

II- L'imagerie neutronique pour les plasmas FCI et l'imagerie optique moléculaire in vivo: deux techniques incontournables

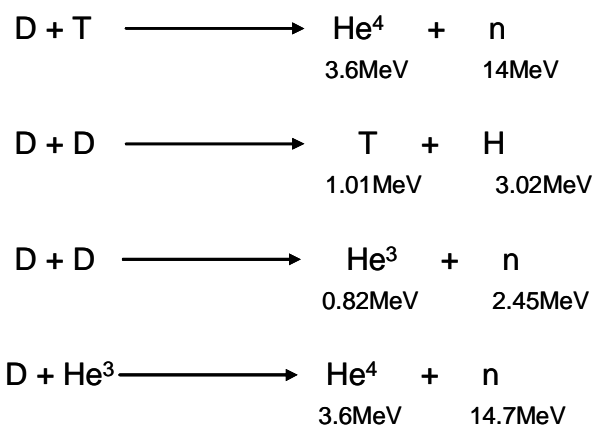
II-1 Rappels sur la fusion par confinement inertiel et la nécessité du diagnostic d'imagerie neutronique

La fusion thermonucléaire, ainsi que le développement de diagnostics médicaux à l'échelle moléculaire sont deux domaines dont les enjeux sont capitaux et dans lesquels l'imagerie joue un rôle clé. Dans le cadre de la fusion par confinement inertiel, on verra que l'imagerie neutronique est un diagnostic essentiel destiné à caractériser la zone où se produisent les réactions de fusion avec pour objectif d'améliorer l'efficacité de fusion.

II-1-1 Objectifs et enjeux de la fusion thermonucléaire

La crise de l'énergie fait prendre conscience des limites des ressources d'origine fossile répertoriées (pétrole, gaz, charbon...). Même si la France développe toutes sortes d'énergies renouvelables et notamment l'énergie solaire, la demande sans cesse croissante d'énergie pour le maintien et le développement de notre industrie et de notre niveau de vie nécessite le recours à l'énergie nucléaire. L'énergie de fission couramment utilisée de nos jours présente l'inconvénient de faire appel à des ressources naturelles limitées en matériaux fissiles. Seule l'énergie de fusion thermonucléaire offre l'espoir d'obtenir une solution à la fois techniquement économique et socialement satisfaisante avant l'épuisement des sources fossiles. Le combustible thermonucléaire ultime est le deutérium disponible en quantité illimitée dans l'eau des océans avec des techniques d'extraction très faciles et peu coûteuses à mettre en œuvre. Du fait de l'importance de ces enjeux, un effort de recherche [FCI : 1] a été entrepris depuis plus de vingt ans pour obtenir en laboratoire des réactions de fusion présentant un bilan énergétique positif.

Contrairement au processus de fission où des noyaux lourds sont fragmentés en noyaux plus légers sous l'impact de neutrons, dans le processus de fusion, de l'énergie est libérée en joignant deux noyaux légers pour former un noyau plus lourd. Les principales réactions de fusion sont [FCI : 2] :



où D et T représentent les noyaux de deutérium et de tritium isotopes de l'hydrogène, H, He³, He⁴ représentent le noyau d'hydrogène et respectivement les

noyaux d'hélium 3 et d'hélium 4 (particule α), isotopes de l'hélium. n représente le neutron émis dans les principales réactions de fusion représentées ci dessus.

La figure 1 compare les évolutions des taux de réaction en fonction de la température pour les principales réactions de fusion. La section efficace des réactions DT est la plus élevée pour une température donnée dans un large domaine d'énergie cinétique. C'est donc la réaction DT qui est la meilleure candidate aux basses températures. Elle libère un neutron de 14MeV qui s'échappe du milieu et une particule α chargée (noyau d'hélium) qui pourra ou non y demeurer. Ceci a une grande importance. Si cette particule reste dans le milieu fusible, elle contribuera au maintien ou à l'acquisition d'une température suffisante pour que la réaction de fusion se propage [FCI : 3,4].

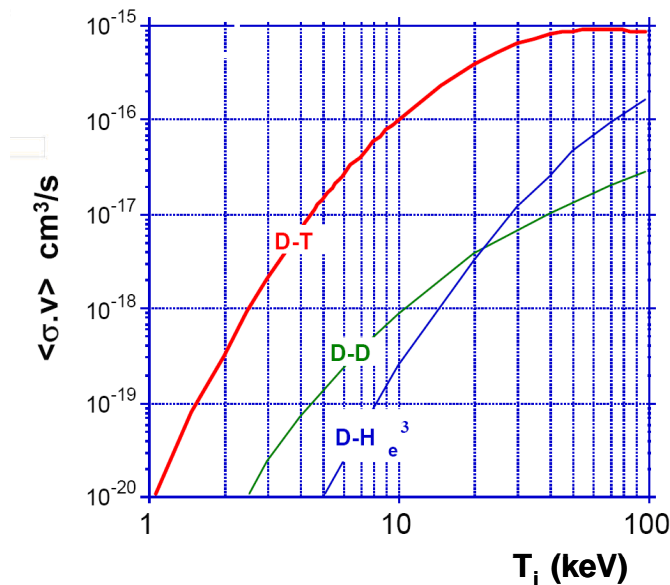
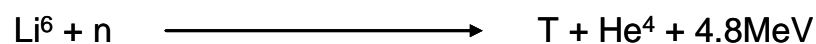
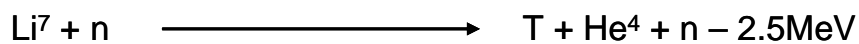


Figure 1 : Taux des principales réactions de fusion.

Dans certains projets de réacteurs comme ITER, la réaction DT ne s'entretient que si l'on sait produire au fur et à mesure le tritium nécessaire. Pour cela, on utilise l'un des isotopes du lithium (Li^7 ou Li^6) présent de manière abondante dans la croûte terrestre. Le neutron déjà produit par la réaction de fusion primaire D+T réagit avec les isotopes du lithium avec dégagement (Li^6) ou absorption (Li^7) d'énergie pour produire le tritium [FCI: 3].



Si on utilise ultérieurement les réactions DD, tout problème d'approvisionnement disparaîtra.

Les conditions qu'il faut réaliser pour que la réaction DT puisse s'entretenir fait l'objet du critère de Lawson [FCI : 5], qui représente la faisabilité scientifique et technique de la production d'énergie à partir des réactions de fusion et qui dépend des caractéristiques du plasma résultant. Le plasma de fusion sera caractérisé par une température élevée et par une durée de vie (temps de confinement) suffisante. En effet, une réaction de fusion ne peut se produire que si les deux noyaux sont distants d'environ 10^{-12}cm . À ces distances, la répulsion coulombienne entre particules chargées est considérable et nécessite que l'énergie cinétique des noyaux soit suffisante pour la vaincre. Donc la température doit être au moins de l'ordre de la

dizaine de keV, c'est-à-dire de l'ordre de la centaine de millions de degrés. L'autre problème essentiel est de conserver le plasma confiné suffisamment longtemps pour qu'une quantité suffisante du combustible fusionne. Ce temps de confinement τ ne sera pas indépendant de la densité μ et c'est en fait le produit $\mu\tau$ qui caractérisera l'efficacité de la fusion. Des calculs montrent [FCI: 4] que ce produit doit, pour la réaction DT, être supérieur à $3.10^{14} \text{ cm}^{-3}\text{s}$.

Pour réaliser cette condition, deux grandes voies sont possibles :

- Densité faible (10^{14}cm^{-3}) et τ long (1s). Ce sont les conditions rencontrées avec la fusion par confinement magnétique.
- Densité élevée (10^{24}cm^{-3}) et temps bref (1ns). Ce sont les conditions de la fusion par confinement inertiel. Ce type de fusion consiste à comprimer et à chauffer fortement pour que puisse s'enflammer et brûler un milieu fusible emprisonné dans une petite bille. Il peut alors dégager une énergie thermonucléaire beaucoup plus élevée que celle qui a permis de le mettre en condition.

II-1-2 Le schéma de la FCI

Pour comprimer et chauffer de petits grains de matière de manière isotropique, l'utilisation de nombreux faisceaux laser est actuellement la technique la plus prometteuse et la mieux adaptée à produire une irradiation sphérique. Pour que la fusion soit énergétiquement rentable, il faut que l'énergie produite par les réactions de fusion compense au minimum les pertes inhérentes à la production d'énergie. En pratique, si on assimile la puissance perdue à celle nécessaire au chauffage du plasma notée P_{pertes} et si la puissance générée par la réaction de fusion est notée P_{Fusion} , le critère de Lawson stipule que $P_{\text{Fusion}} > P_{\text{pertes}}$ ¹. Le calcul du critère de Lawson [FCI: 5] se base sur une estimation de ces deux quantités pour la réaction de fusion considérée.

La densité d'énergie W stockée sous forme d'agitation thermique lors de la réaction DT s'écrit:

$$W = \frac{3}{2}(\mu_e + \mu_D + \mu_T)kT \quad (1)$$

où μ_e , μ_D et μ_T sont respectivement les concentrations des électrons et des ions Deutérium, Tritium, k est la constante de Boltzmann et T la température à laquelle la réaction est portée. Les ions D et T réagissent pendant la durée de confinement τ . Ce temps dépend du dispositif mis en place pour effectuer la réaction DT.

On a ainsi l'expression de P_{pertes} par unité de volume :

$$P_{\text{pertes}} = \frac{W}{\tau} \quad (2)$$

La puissance par unité de volume générée par les réactions de fusion P_{Fusion} s'écrit :

$$\begin{aligned} P_{\text{Fusion}} &= E_{\text{Fusion}} \cdot f \\ f &= \mu_D \mu_T < \sigma v > \end{aligned} \quad (3)$$

¹ En théorie, il faudrait introduire les pertes radiatives dans le bilan énergétique.

E_{Fusion} désigne l'énergie libérée par chaque réaction de fusion élémentaire, f est le taux de réaction volumique et $\langle \sigma v \rangle$ est la valeur moyenne de la section efficace de réaction multipliée par la vitesse relative des deux réactifs D et T.

Avec ces notations, le critère de Lawson peut s'écrire :

$$\mu_e \tau > \frac{3}{2} \frac{\mu_e (\mu_e + \mu_D + \mu_T)}{\mu_D \mu_T} \frac{kT}{E_{\text{Fusion}} \langle \sigma v \rangle} \quad (4)$$

Dans une configuration avec des proportions de Deutérium et de Tritium identiques, c'est-à-dire $\mu_D = \mu_T = 1/2 \mu_e$, le critère de Lawson se réécrit :

$$\mu_e \tau > \frac{12k}{E_{\text{Fusion}} \langle \sigma v \rangle} T = S \quad (5)$$

expression qui relie μ_e , τ et T . Dans le membre de droite de l'équation 5 représentant le seuil du critère de Lawson et noté S , toutes les quantités sont dépendantes de la physique fondamentale de la réaction DT. En particulier la quantité $T / \langle \sigma v \rangle$ ne dépend que de la température et l'on peut trouver sa valeur minimale alors que le membre de gauche ne dépend que du dispositif mis en place pour réaliser le processus de fusion.

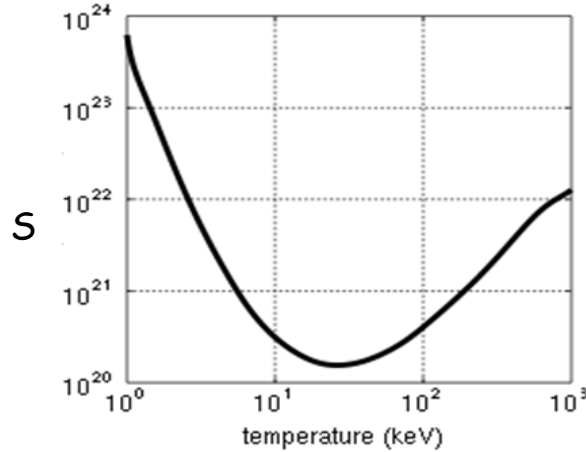


Figure 2 : Variation de S en s/m^3 en fonction de la température.

La figure 2 représente la variation du seuil S du critère de Lawson en fonction de la température. La valeur minimum de S est de l'ordre de 10^{20}s.m^{-3} pour une température de 50 keV.

Pour les plasmas à confinement inertiel, le critère de Lawson peut être formulé différemment [FCI : 3,5,6]. On assimile τ au temps de désassemblage de la capsule sphérique de DT qui s'exprime par $\tau = R / v_s$ avec R le rayon de la capsule et v_s la vitesse du son dans le deutérium. En introduisant ρ la densité massique du DT, le critère de Lawson devient:

$$\rho R > \frac{12k v_s}{E_{\text{Fusion}} \langle \sigma v \rangle} T = S v_s \quad (6)$$

Le paramètre ρR est appelé la densité surfacique. Il a la dimension d'une opacité et sa valeur moyenne est un paramètre décisif. Il caractérise le taux de combustion ainsi que la fraction d'énergie déposée par les particules α . Un ρR de 3g/cm^2 assure un taux de combustion de 30% et la réabsorption des α .

Le critère de Lawson, représenté par les équations 5 et 6 pour respectivement la fusion magnétique et la fusion inertielle, est le critère de faisabilité le plus simple, marquant la limite de production d'énergie thermonucléaire. En FCI, l'allumage du mélange DT, obtenu lorsque l'énergie déposée localement par les particules α , diminuée des pertes radiatives, équilibre l'énergie interne fournie au DT, ne peut être atteint qu'à partir d'une certaine température dite de Post. La température de Post est une limite en-dessous de laquelle l'allumage est impossible.

Si on introduit le gain du DT, noté G_{DT} , comme étant le rapport entre l'énergie thermonucléaire totale dégagée et l'énergie interne investie dans le DT, le critère de Lawson sera atteint pour $G_{DT} \cong 2$ et la courbe d'allumage correspond à $G_{DT}=10$.

Le gain global de la cible $G=hG_{DT}$ doit tenir compte du rendement h avec lequel l'énergie laser incidente est effectivement transférée sous forme d'énergie thermique au milieu fusible. L'objectif principal des recherches actuelles menées en FCI est le « breakeven scientifique » pour lequel $G>1$ c'est-à-dire $G_{DT} > 100$.

Si E_0 représente l'énergie laser nécessaire pour porter 1g de DT à une température de 10 keV, alors l'énergie laser nécessaire pour porter une cible sphérique de rayon R et de densité ρ à la même température s'écrit :

$$E_{Laser} = E_0 \frac{4\pi (\rho R)^3}{3 \rho^2} \quad (7)$$

On vérifie aisément que E_0 est de l'ordre de $3.8 \cdot 10^8$ Joules. En l'absence de compression, pour du deutérium solide de densité $\rho=0.2\text{gcm}^{-3}$, et pour atteindre un temps de désassemblage de l'ordre de 2.5ns (correspondant à $R=0.25\text{cm}$), c'est-à-dire $\rho R \cong 0.05\text{gcm}^{-2}$, E_{laser} doit être au moins égale à $5 \cdot 10^6$ Joules. L'état actuel de la technique ne permet pas d'atteindre de telles énergies avec des temps aussi courts. Il est donc nécessaire de comprimer le mélange DT tout en restant dans des limites réalistes d'énergie à investir. La figure 3 [FCI: 6] montre la limite de l'allumage qui correspond à un ρR de 0.2g/cm^2 et une température de 6 keV.

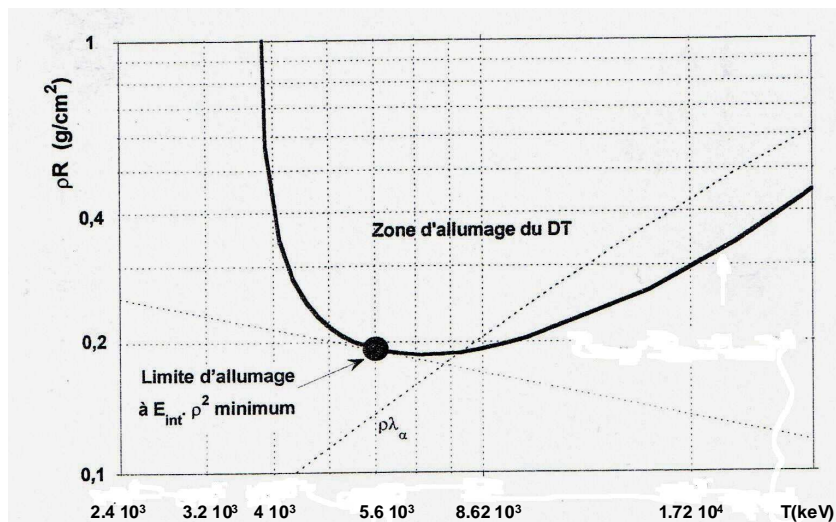


Figure 3 : Courbe d'allumage (ρR , T) du DT.

Pour un rapport de compression de 10^3 et un ρR de 1g/cm^2 , l'énergie laser nécessaire pour atteindre une température de 10KeV sera, d'après 7, égale à 40kJ, niveau largement atteint aujourd'hui. Pour atteindre un taux de compression de l'ordre de 10^3 , on crée dans le plasma une succession d'ondes de choc convergeant

simultanément au cœur de la cible et la forme temporelle de l'impulsion doit être sculptée en conséquence.

La phénoménologie de l'implosion [FCI : 6] est représentée dans la figure 4 ci-dessous.

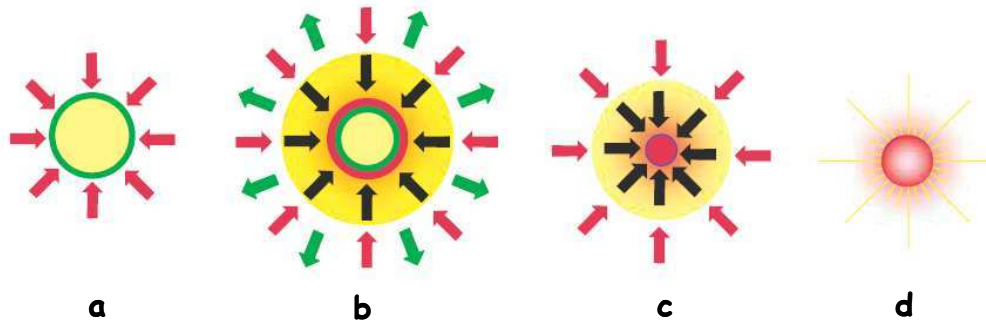


Figure 4 : Phénoménologie de l'implosion.

La cible est irradiée directement [FCI : 7] par des faisceaux laser, ou indirectement par du rayonnement X [FCI : 8], de manière la plus isotrope possible. L'énergie est absorbée à la périphérie de la cible et diffusée par conduction thermique vers les régions internes plus froides (phase a). En même temps (phase b), le solide chauffé se détend vers le vide avec une vitesse élevée et met en mouvement le milieu matériel dans la direction centripète. L'onde de compression induite par ce mécanisme d'ablation permet d'accroître la densité du cœur de la cible. La température augmente également mais cette augmentation doit être suffisamment lente pour que la pression cinétique du milieu chauffé ne s'oppose à la force de compression ce qui en diminuerait l'efficacité et c'est là une considération que doit régir la forme temporelle de l'impulsion laser. Dans une telle évolution où les effets de chauffage de la cible sont minimisés au cours de la compression, l'élévation de température est obtenue brutalement en fin de compression par création d'un point chaud au centre de la cible (phase c). Les réactions de fusion s'amorcent en ce point émettant des particules α qui sont réabsorbées dans le milieu et en accroissent la température, ce qui assure l'amorçage de la combustion du DT (phase d).

Les deux schémas d'irradiation principaux [FCI: 6] envisagés pour imploser la cible sont représentés dans la figure ci-dessous:

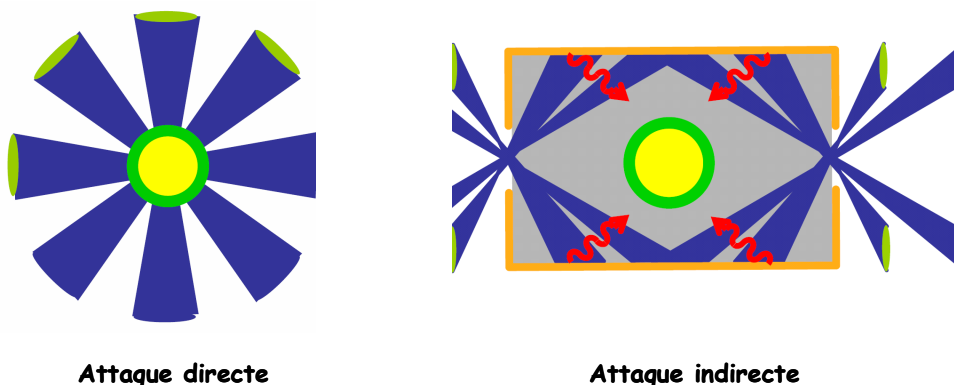


Figure 5 : les schémas d'irradiations de la cible.

Dans le schéma d'attaque directe, la cible est directement irradiée par les faisceaux laser. L'interaction à haute intensité entre le rayonnement laser et la paroi de la cible crée un plasma très chaud qui se détend ; cette détente génère une pression dite

d'ablation très élevée, qui provoque l'implosion de la cible. Ce schéma d'irradiation assure une bonne efficacité de couplage entre l'énergie laser transmise et l'énergie déposée dans le DT (50%). Par contre, il faut contrôler l'uniformité d'irradiation de la cible. Dans le schéma d'attaque indirecte, la cible se trouve enfermée dans une enceinte d'or dont le numéro atomique Z est élevé. L'interaction entre le rayonnement laser et les parois de l'enceinte produit un plasma qui émet un rayonnement X intense qui va réaliser l'implosion de la cible. Dans cette configuration, les contraintes sur l'uniformité d'éclairement de la cavité (qualité des faisceaux laser) sont notablement réduites par rapport au schéma d'attaque directe. Par contre le couplage entre l'énergie laser transmise et l'énergie déposée dans le DT est moins efficace que pour l'attaque directe (15%).

Comme il a été précisé précédemment, la recherche d'un gain élevé conduit à mettre en œuvre l'allumage d'un point chaud central visant à ne porter aux conditions d'allumage que le cœur du DT comprimé. Un nouveau concept [FCI : 9] a été proposé qui consiste à dissocier les phases de compression et d'allumage. L'ensemble du combustible est comprimé, puis une petite fraction du DT comprimé est sélectivement chauffée à l'aide d'un rayonnement laser auxiliaire. Cette méthode est basée sur l'emploi d'un laser à impulsion courte et ultra haute intensité dont la technologie s'est développée au cours de la dernière décennie. De tels faisceaux lasers, focalisés sur un plasma, conduisent à des éclaircissements très élevés (10^{19} à 10^{21} W/cm²). Il a été montré expérimentalement, qu'à ces éclaircissements, une fraction notable de l'énergie laser (jusqu'à 30%) était transférée à des électrons ultra rapides et dirigés vers l'avant. Cependant ces électrons doivent être générés suffisamment près du DT comprimé de manière à « arroser » une zone sensiblement de la même taille que celle du point chaud à créer. Pour cela, on utilise des propriétés spécifiques de ces faisceaux laser intenses. La première de ces propriétés utilise le fait qu'un faisceau laser intense se propageant dans un plasma sous critique, l'expulsant par l'action de la force pondéromotrice et creusant ainsi une sorte de « canal » qui peut faciliter le passage d'un autre faisceau. Une autre propriété des éclaircissements intenses est la modification de la densité critique apparente qui est alors plus élevée. Ces deux propriétés autorisent le faisceau intense à pénétrer plus profondément dans le plasma et à se rapprocher du combustible comprimé.

Le schéma de FCI avec allumage rapide comporte 3 phases :

- Compression isentropique du DT à l'aide d'une source laser à impulsion longue.
- Création d'un « canal » dans le plasma sous-critique à l'aide d'un faisceau laser intense à impulsion courte.
- Création d'un point chaud à l'aide des électrons rapides relativistes générés par le faisceau laser intense.

Un autre concept étudié est l'allumage par chocs [FCI : 10,11] dans lequel la phase d'assemblage est assurée par une impulsion ns. L'implosion est réalisée à basse vitesse (200-300km/s) avec un exposant adiabatique de l'ordre de 1. La phase d'allumage est assurée par un pic laser de quelques picosecondes de long à des puissances de quelques centaines de térawatt. Ce pic laser est envoyé à la fin de l'impulsion principale de manière à générer un choc qui en se focalisant au centre modifie les conditions isobare d'allumage en conditions non isobare, ce qui se traduit par un abaissement du seuil d'allumage. L'intérêt de cette technique est d'avoir des gains très élevés et une bonne stabilité hydrodynamique du fait des faibles vitesses d'implosion. Le choix de la puissance du pic laser permet d'ajuster l'énergie thermonucléaire délivrée par la cible.

II-1-3 Les différentes installations en France et dans le monde

II-1-3-1 La FCI en France. État des lieux

Le CEA mène activement des recherches dans le domaine de la FCI depuis 1963 (cf Annexe A). C'est sur le centre de Limeil Valenton de la direction des applications militaires (DAM) que les lasers de puissance ont été implantés et développés. C'est en 1973 que la première expérience multifaisceaux en géométrie cylindrique destinée à étudier le comportement d'une cible est réalisée à l'aide des quatre chaînes (100J par chaîne, 3.5ns) du laser C6. C'est ensuite en 1976 que des expériences d'implosion de microballons remplis de DT sont réalisées sur le laser P102. En 1983, les premières expériences en attaque indirecte sur OCTAL ont permis d'obtenir $5 \cdot 10^7$ neutrons. En 1986, le laser Phébus est mis en service. Il comportait deux faisceaux avec chacun une énergie de 10kJ à $1.053\mu\text{m}$ (1ω) et convertie à $0.53\mu\text{m}$ (2ω), puis à $0.35\mu\text{m}$ (3ω) avec une efficacité de conversion respectivement de 50% et 35%. C'est en 1989 avec le laser Phébus qu'ont été réalisées des implosions en régime d'ablation avec des densités finales du DT allant jusqu'à 10g/cm^3 .

Le programme laser du CEA s'est poursuivi avec la mise en service en 2002 de la ligne d'intégration laser (LIL) qui est le prototype à l'échelle 1 de l'une des 30 futures chaînes laser du laser mégajoule (LMJ) au CESTA à Bordeaux. Ce laser comporte quatre faisceaux et délivre une énergie de 30kJ en 1ns à une longueur d'onde $\lambda=0.35\mu\text{m}$.

Un autre acteur qui a joué un rôle important dans le domaine de la FCI est le Laboratoire pour l'Utilisation des Lasers Intenses (LULI). A l'origine, le LULI, jouait le rôle en France de pôle civil des plasmas chauds par laser. Depuis 2000, avec le lancement du projet Mégajoule (LMJ), il s'est repositionné scientifiquement par rapport au CEA en exploitant les applications des lasers énergétiques et intenses fonctionnant à haute cadence avec le projet « LULI 2000 » [FCI : 12] dimensionné pour 2 chaînes délivrant 1kJ en 1ns avec une chaîne Petawatt délivrant 400J en 400fs.

II-1-3-2 La FCI dans le monde. État des lieux

Des programmes de recherche en FCI avec des lasers de puissance se sont également développés au Royaume Uni, aux USA, au Japon et en Russie (cf Annexe A).

Au Royaume Uni, l'« Atomic Weapons Establishment » (AWE) avec le laser ORION qui combine 10 faisceaux en impulsions ns avec 2 faisceaux en impulsions subpicoseconde avec pour objectifs de créer dans les plasmas des densités d'énergie de l'ordre 10^{21} W/cm^2 [FCI : 13]. Chacun des faisceaux ns délivre 500J à $0.35\mu\text{m}$ en 1ns. Chacun des faisceaux subpicoseconde délivre 500J en 500fs soit une puissance de 1PW.

Aux USA dans deux laboratoires :

- Au « Lawrence Livermore National Laboratory » (LLNL) avec le « National Ignition Facility » (NIF) qui délivre 1.5MJ en 192 faisceaux et qui est opérationnel depuis 2009.
- A Rochester, le « Laboratory for Laser Energetics » a mis en service le laser OMEGA UPGRADE qui délivre avec ses 60 faisceaux une énergie de 30kJ en 1 à 2 ns avec une longueur d'onde de $0.35\mu\text{m}$.

Au Japon, le ILE (Institute of Laser Energetics) à Osaka dispose du laser Gekko XII qui avec ses 12 faisceaux délivre 10kJ en 1 ns à 0.35µm. Les Japonais ont obtenu des densités finales de 600g/cm³ et 10¹³ neutrons dans les 4π.

En Russie, le projet « Iskra-6 », censé être opérationnel en 2010, a été dimensionné pour délivrer 300kJ en 3ns avec ses 128 faisceaux [FCI : 14].

II-1-3-3 Les grands projets de FCI par laser

L'objectif de la prochaine génération d'installations FCI, en cours de construction, en France, aux USA et en Europe est d'obtenir la combustion du DT par laser avec des gains de fusion de l'ordre de 10 (cf Annexe B), c'est-à-dire l'énergie thermonucléaire dégagée doit être 10 fois supérieure à celle délivrée par le laser à la cible. Pour atteindre cet objectif, il faut disposer d'un laser pouvant délivrer, en 1 ns, une énergie supérieure au mégajoule.

Les deux grands projets qui devraient conduire à la combustion du DT sont:

- Le « National Ignition facility » (NIF) aux USA avec 1.5 MJ en 192 faisceaux.
- Le « Laser Mégajoule » (LMJ) en France dimensionné pour délivrer 1.8MJ en 240 faisceaux.

En parallèle, des projets de réacteur thermonucléaire basé sur la FCI sont menés en Europe par le « Rutherford Appleton Laboratory » (projet HIPER) et aux USA par le LLNL (Projet LIFE). Ces deux projets visent à construire des prototypes qui permettront de tester la faisabilité scientifique et technique de la fusion nucléaire initiée par laser comme nouvelle source d'énergie.

Le projet HIPER [FCI : 15] proposé par le professeur Mike Dunne prévoit de coupler un laser à impulsion longue délivrant 200kJ en 5ns pour la compression de la cible avec un laser à impulsion courte délivrant 70kJ en 10 ps pour le chauffage sélectif d'une partie du combustible et l'allumage rapide. Le gain de fusion attendu est de l'ordre de 100.

Le type de réacteur du projet LIFE [FCI : 8] est dit « Hybride » et consiste à utiliser les neutrons de fusion pour initier et entretenir les réactions de fission sur un combustible fissile sous critique pouvant être soit des déchets nucléaires non retraités, de l'uranium appauvri ou du Pu 239. Les gains attendus vont de 100 à 300 comprenant un gain de fusion de l'ordre de 25 à 30 et un gain additionnel de 4 à 10 du au combustible fissile.

II-1-4 Les diagnostics plasma FCI

Dans les expériences FCI, il est nécessaire de contrôler le bon déroulement d'un tir laser c'est-à-dire de mesurer les paramètres liés au conditionnement de la cible, à la formation et aux caractéristiques du plasma résultant ainsi que le rendement de fusion. C'est le rôle des diagnostics qui sont implantés autour de la chambre d'expérience [FCI : 17].

Plus précisément, les objectifs spécifiques des différentes mesures effectuées lors d'un tir laser sont:

- Connaître les conditions d'irradiation de la cible.
 - o En attaque directe : Réaliser un bilan d'énergie.
 - o En attaque indirecte : Caractériser les sources de rayonnement X à l'intérieur de la cavité.
- Caractériser la cinématique de l'implosion.
 - o Caractérisation de la symétrie d'implosion.

- Mesure de la vitesse d'implosion et du temps de focalisation.
- Mesure de la chronométrie de l'implosion par rapport à l'impulsion laser.
- Radiographie X.
- Caractériser l'état final du poussoir et du DT.
 - Mesure de la température du combustible
 - Mesure de la densité surfacique $\rho\Delta R$ du poussoir.
 - Mesure du ρR du combustible.
 - Mesure de la durée de l'émission neutronique.
 - Image de la zone de combustion
- Mesurer le rendement de fusion.
 - Mesure du nombre de neutrons.

Ces mesures ont été réalisées à partir des principaux rayonnements émis lors d'un tir c'est-à-dire les rayons X et les neutrons. Les mesures obtenues à partir des diagnostics X sont liées à la caractérisation des sources de rayonnement en attaque directe et indirecte ainsi qu'à l'étude de la sphéricité et la cinématique de l'implosion. Les mesures obtenues à partir des diagnostics neutroniques sont liées à la caractérisation du milieu fusible.

II-1-5 Les mesures neutroniques. L'imagerie neutronique

Les mesures neutroniques concernent le nombre de neutrons émis, la chronométrie et la durée de l'émission neutronique, la température et la densité des ions ainsi que les dimensions de la zone de fusion [FCI: 17] (Figure 6). Deux types de cibles sont envisagés :

- Les cibles remplies de DT gazeux ou de DD (gazeux ou cryogénique).
- Les cibles dites de combustion remplies de DT cryogénique.

Mesures	Cibles inertes	Cibles combustions
Nombre de neutrons/ 4π	$[10^8, 5 \cdot 10^{16}] \pm 5\%$	$7 \cdot 10^{18} \pm 5\%$
Température des ions	$[5, 10] \text{ KeV} \pm 5\%$	$100 \text{ KeV} \pm 5\%$
Durée de l'émission	$100\text{ps} \pm 10\text{ps}$	$100\text{ps} \pm 10\text{ps}$
Dimensions de la source	$30\mu\text{m} \pm 5\mu\text{m}$	$100\mu\text{m} \pm 5\mu\text{m}$

Figure 6 : Les mesures neutroniques.

Dans les expériences de FCI, les diagnostics d'imagerie (neutrons et X) permettent de visualiser les différentes géométries de la cible au cours de la phase de compression. Bien que les résultats fournis par les dispositifs d'imagerie X et neutronique semblent similaires, ils présentent des différences qui en font des diagnostics complémentaires pour caractériser les conditions d'irradiation de la cible et les caractéristiques du plasma résultant [FCI: 18]. Alors que l'imagerie X permet d'obtenir la distribution en température des différentes parties de la cible, l'imagerie neutronique fournit la distribution spatiale de l'émission des neutrons de fusion.

L'imagerie neutronique résolue en énergie [FCI : 18,19], c'est-à-dire utilisant un ou plusieurs dispositif(s) de détection capable de différencier les neutrons suivant leurs énergies, permet d'obtenir des images associées aux émissions de différentes parties de la cible notamment une image associée aux régions dites chaudes où brûle le DT et une image associée aux régions dites froides où le DT ne brûle pas encore. Ces deux images permettent d'obtenir des informations plus complètes sur la combustion de DT et d'identifier des phénomènes capables de dégrader cette combustion.

L'image des neutrons de 14MeV montre une région centrale brillante, associée à la zone où brûle le DT, entourée d'une zone de diffusion d'intensité moins forte. La région centrale montre l'intensité et la forme du point chaud et caractérise la qualité de la combustion du DT, tandis que la zone de diffusion peut indiquer la présence de phénomènes de mélanges et donc d'instabilités. L'image associée aux régions dites froides [6-10MeV] caractérise l'efficacité de compression de la cible. Une méthode envisageable pour obtenir séparément ces deux images est de détecter les neutrons en fonction de leurs temps de vol entre la cible et le détecteur.

La figure 7 [FCI : 17] montre le temps de parcours des neutrons en fonction de leurs énergies pour une distance cible détecteur de 25m.

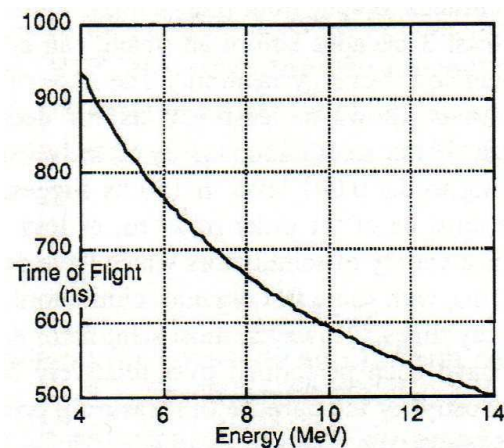


Figure 7 : Temps de parcours des neutrons en fonction de leurs énergies pour une distance cible détecteur de 25m.

Pour un neutron de 14MeV, le temps de parcours cible détecteur est de 500ns. Un neutron de 6MeV met environ 770ns pour parcourir les 25m qui séparent la cible du détecteur. La détection de ces neutrons nécessite que le temps de décroissance du scintillateur soit de l'ordre de 20ns, ce qui est rendu tout à fait possible par les technologies actuelles.

Les dimensions attendues pour le projet Mégajoule sont de l'ordre de 30 μ m pour le point chaud et de 100 μ m lors de la combustion. La résolution spatiale requise pour caractériser la zone où brûle le DT (point chaud) est de 5 μ m. Pour atteindre une telle résolution en tenant compte du pouvoir de pénétration des neutrons de 14MeV, on ne peut utiliser une imagerie classique à l'aide d'un sténopé, car on ne sait pas fabriquer de sténopé épais compatible avec la résolution demandée de 5 μ m. La technique envisagée est une technique par zone de pénombre, mise au point sur le laser NOVA (LLNL-USA) en 1988, puis testée sur le laser Phébus (CEL-V, France). L'imagerie de pénombre est une technique d'ouverture codée qui permet d'obtenir une bonne résolution tout en utilisant un diaphragme de diamètre plus grand que les dimensions de la source. L'image enregistrée se présente sous l'aspect d'un disque de pleine lumière frangée par une zone de pénombre dans laquelle la distribution spatiale de la

source est convoluée avec la fonction de transfert de l'ouverture. La résolution spatiale fournie par le dispositif expérimental est limitée à la fois par l'épaisseur du diaphragme et la quantité d'information recueillie au niveau du détecteur.

Un autre point important est que l'information recueillie au niveau du détecteur est fortement dégradée par du bruit dépendant du signal. Enfin la reconstruction de la source dans le plan objet nécessite le développement de techniques spécifiques pour atteindre la résolution demandée.

Le développement d'un dispositif d'imagerie neutronique pouvant atteindre une résolution approchant les 5 μ m va nécessiter, par rapport à la version qui était utilisée sur le laser Phébus, l'optimisation du système de détection en augmentant la quantité d'informations recueillies, le développement de nouveaux types de diaphragmes, ainsi que la mise au point de nouvelles techniques de reconstruction. La description et l'optimisation du dispositif d'imagerie de pénombre mis au point sur l'installation Phébus, ainsi que le dimensionnement d'un dispositif d'imagerie de pénombre sur les installations OMEGA et LMJ, seront présentés dans la partie III. L'ensemble des techniques d'analyse et de reconstruction d'image visant à restituer les dimensions et la forme de la zone de fusion où brûle le DT seront décrites dans les parties III et IV.

II-2 L'imagerie moléculaire pour les diagnostics médicaux et la recherche médicale

C'est le deuxième domaine scientifique abordé dans ce mémoire. Il a des enjeux totalement différents de ceux de la FCI, mais nous verrons que la technique d'imagerie étudiée, utilise des méthodes d'analyse de données et de reconstruction voisines.

II-2-1 Objectifs et enjeux

L'un des objectifs de la médecine, dans sa recherche de thérapies adaptées à des pathologies spécifiques comme le cancer, est la mise au point de diagnostics précoces ainsi que l'identification et la caractérisation des acteurs prépondérants dans l'évolution de la maladie [IM: 1].

Depuis la découverte des rayons X en 1895 et le développement de l'informatique dans le traitement numérisé des images, plusieurs techniques d'imagerie moléculaire se sont développées et sont actuellement utilisées couramment en médecine : la tomographie par émission de positons (TEP), l'imagerie par résonance magnétique (IRM), le scanner X et plus récemment l'imagerie optique.

Le scanner X permet de visualiser tous les éléments profonds de l'organisme. L'avantage de cette technique par rapport à la radiologie classique est l'obtention, grâce à sa sensibilité, de résultats coupe par coupe, des éléments jusqu'alors confondus sur les clichés radiographiques standards. Son principe est de choisir un plan de coupe et d'effectuer de multiples projections sous différents angles afin de connaître le coefficient d'atténuation en chaque point du plan.

L'IRM permet de visualiser des détails invisibles sur les radiographies standards ou le scanner. En plaçant le corps humain dans un champ magnétique très puissant, elle analyse la réaction des tissus aux champs magnétiques, l'organisme humain comportant une multitude de petits « aimants atomiques » comme le proton du noyau de l'atome d'hydrogène. L'analyse du signal transmis permet de visualiser les organes internes.

La TEP s'appuie sur les propriétés radioactives d'isotopes (dont le noyau est radioactif) introduit dans les molécules. Un radio pharmaceutique (radio traceur) est injecté dans le corps du patient et se fixe sur l'organe à étudier. Les émissions directes de rayons gamma issus de l'annihilation des positons sont détectés grâce à une caméra et analysés par ordinateur pour fournir une image 3D de la distribution du radio pharmaceutique dans l'organe. Les images obtenues peuvent être « fonctionnelles », si elles permettent de suivre dans le temps l'activité d'un organe en fonctionnement.

Toutes ces techniques ont fait des progrès considérables. Les améliorations de la résolution spatiale de la TEP et de la sensibilité de détection de l'IRM permettent de visualiser l'organisme avec des résolutions de l'ordre de la molécule. Ces avancées technologiques permettent d'avoir accès à des informations indétectables par le diagnostic clinique : la forme, la densité d'un organe, voire certains aspects de son métabolisme, il s'agit alors d'imagerie fonctionnelle. Dans un même temps, les développements récents de techniques optiques et de marqueurs fluorescents ont permis l'émergence de l'imagerie moléculaire optique. Après injection d'une molécule dotée d'un marqueur fluorescent, ces techniques optiques s'appuient sur la détection du marqueur fluorescent après excitation par une source de lumière extérieure. On peut alors étudier en temps réel les populations des cellules marquées et caractériser le développement d'une maladie et l'effet d'agents pharmaceutiques.

Ces développements technologiques et la capacité d'analyser et transférer rapidement des données font de l'imagerie moléculaire une méthode de choix pour le diagnostic, le traitement et le suivi des maladies et lui confère un potentiel considérable en médecine expérimentale[IM: 1]. Elle va permettre d'identifier les déterminants moléculaires des processus pathologiques in vivo, d'évaluer de nouvelles thérapies moléculaires et d'accélérer le développement de médicaments.

À la différence des maladies infectieuses qui peuvent être détectées rapidement par l'augmentation de la température chez le patient, il n'existe pas de moyen universel pour détecter de manière précoce un cancer.

II-2-2 Les moyens d'investigation en imagerie moléculaire

Parmi les différents diagnostics d'imagerie moléculaire, on peut distinguer deux grandes familles : la première regroupe principalement l'imagerie X (Scanner X) et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) et s'appuie sur la détection de signaux intrinsèques à l'organisme étudié : atténuation du rayonnement X par les différents tissus traversés, propriétés magnétiques locales. La seconde famille concerne les techniques qui s'appuient sur la détection après injection d'un traceur spécifique d'une cible biologique. Il s'agit principalement de l'imagerie nucléaire (TEP) qui repose sur la détection de molécules radio marquées et de l'imagerie optique qui s'appuie sur la détection de molécules émettrices de photons optiques.

Dans ce qui suit, tous ces diagnostics sont décrits de façon détaillée et c'est l'imagerie optique qui fait l'objet de mon travail.

II-2-2-1 La tomodensitométrie (scanner X)

La tomodensitométrie, dite aussi tomographie axiale calculée, par ordinateur consiste à effectuer une reconstruction 3D des tissus à partir d'une analyse tomographique obtenue en soumettant le patient au balayage d'un faisceau de rayons X. L'émetteur de rayons X tourne autour du patient en même temps que les récepteurs chargés de

mesurer l'intensité des rayons après leur passage dans le corps. Les données obtenues sont ensuite traitées par ordinateur, ce qui permet de recomposer des vues en coupe des organes ou des vues en trois dimensions. On peut faire ressortir certains tissus, en particulier les vaisseaux sanguins, en injectant un produit dit de contraste (le plus souvent un complexe de l'iode) qui a la propriété de fortement absorber les rayons X et donc de rendre visible les tissus où ce produit est présent. Il est possible aujourd'hui d'obtenir en quelques secondes, grâce aux scanners multidétecteurs à acquisition spiralée, une exploration très précise d'un large volume du corps humain. Dans ce type de scanners, l'émission des rayons X et l'acquisition est continue, la table avançant dans l'anneau circulaire à une vitesse fixée. La réalisation de l'examen est beaucoup plus rapide. Sur les appareils de dernière génération, la rotation des capteurs est passée de 500ms à 280ms. Le scanner multi barrettes associé à la technique hélicoïdale, un nombre de capteurs plus importants, ce qui permet des coupes plus fines et la reconstruction tridimensionnelle de structures plus petites (Figure 8). Le scanner double tube (Figure 9) est un scanner, mettant en œuvre une technologie dans laquelle deux sources de rayons X disposées en angle droit l'une par rapport à l'autre, offre une vitesse d'acquisition et une résolution temporelle deux fois plus élevées. Il permet une diminution du flou cinétique et de plus, soit une acquisition deux fois plus rapide, soit une acquisition deux fois plus dosée (patient obèse), soit une acquisition avec deux énergies différentes, ce qui ouvre de nouveaux domaines d'utilisation.

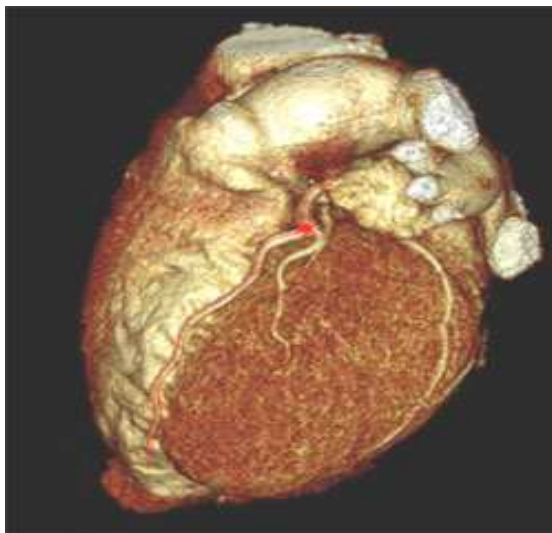


Figure 8 : Cœur humain obtenu à l'aide du CT scan double source.

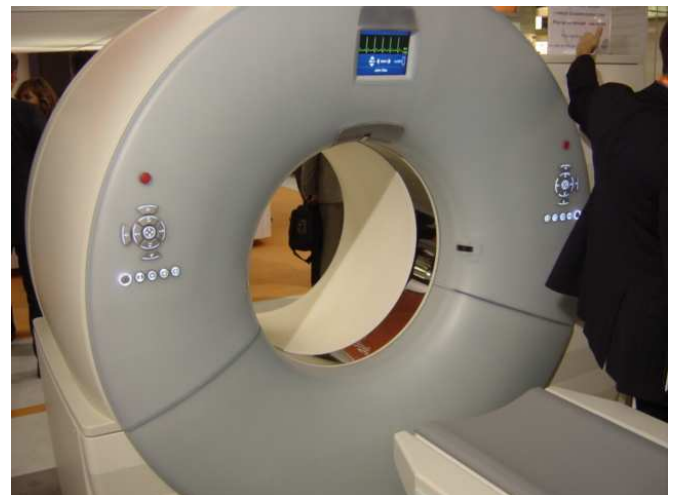


Figure 9 : CT scan à double source.

Cette technique rapide et relativement peu coûteuse ne fournit que des informations anatomiques et présente l'inconvénient de fournir un contraste peu marqué pour les tissus mous.

II-2-2-2 L'imagerie par résonance magnétique (IRM)

L'IRM utilise les propriétés magnétiques des noyaux d'hydrogène présents dans les molécules d'eau (H_2O) qui constituent 80% du corps humain et s'appuie sur le principe de résonance magnétique nucléaire (RMN). La RMN consiste à détecter les variations de l'aimantation des noyaux d'hydrogène sous l'action d'un champ magnétique intense B_0 et d'une onde électromagnétique excitatrice générée par un champ radio

fréquence B_1 oscillant et de faible intensité. Tout noyau porte une charge. Cette charge tourne autour de l'axe nucléaire et engendre un dipôle magnétique caractérisé un moment magnétique appelé spin et notée μ . En l'absence de champ magnétique, les moments magnétiques ne sont pas orientés (Figure 10).

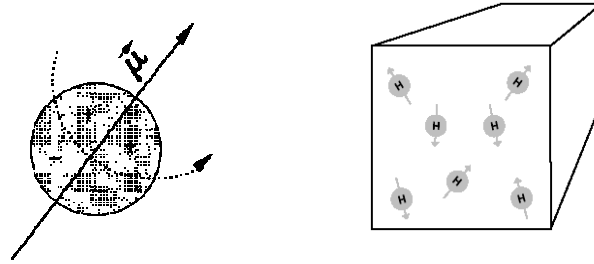


Figure 10 : Moment magnétique μ et son orientation en l'absence de champ magnétique.

Chaque proton d'un échantillon tissulaire est orienté de façon aléatoire dans l'espace et, sachant que la somme des vecteurs d'aimantation élémentaire de chaque proton est nulle, le vecteur d'aimantation macroscopique est nul.

Sous l'action du champ B_0 , les spins s'orientent soit parallèlement au champ, ce sont les spins dits α , soit anti parallèlement à B_0 , ce sont les spins dits β (Figure 11).

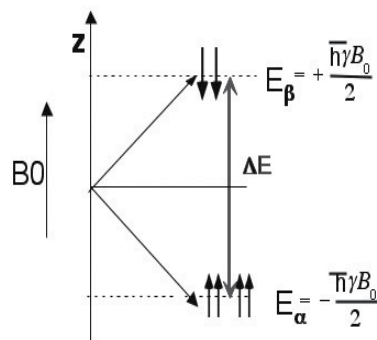


Figure 11 : Niveaux d'énergie sous l'action du champ magnétique B_0 .

Les spins α , parallèles à B_0 occupent le niveau inférieur.

Les spins β , anti parallèles à B_0 occupent le niveau supérieur.

Si les protons s'orientent dans la direction de B_0 , ils ne sont pas rigoureusement alignés avec celui-ci et tournent individuellement autour de B_0 avec une fréquence angulaire ω_0 dite fréquence de Larmor, avec pour expression :

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (8)$$

où γ est le rapport gyromagnétique (spécifique à chaque noyau). La relation fondamentale en RMN exprime que l'aimantation résultante (M) de tous les spins tourne autour du champ à laquelle elle est soumise. L'énergie d'interaction entre les moments magnétiques propres des particules à spins α et β et le champ B_0 sont définis par les expressions :

$$\begin{aligned} E_\alpha &= \mu_\alpha B_0 \text{ avec } \mu_\alpha = -\frac{1}{2} h\gamma \\ E_\beta &= \mu_\beta B_0 \text{ avec } \mu_\beta = +\frac{1}{2} h\gamma \end{aligned} \quad (9)$$

Où μ_α et μ_β représentent respectivement les moments magnétiques propres des particules à spins α et des particules à spins β . L'impulsion d'excitation du champ radio fréquence B_1 est appliquée perpendiculairement à B_0 . Pour qu'il y ait transfert d'énergie à ce système en état d'équilibre, c'est-à-dire pour que les noyaux passent de l'état inférieur à l'état supérieur, il faut que la fréquence ω_1 des ondes de radiofréquence soit synchrone de la fréquence de Larmor ω_0 spécifique des protons dans le champ B_0 : on dit alors que les deux systèmes sont en résonance (Figure 12). Les protons sont alors représentés par l'aimantation M qui a deux composantes, l'aimantation longitudinale M_z et l'aimantation transversale M_{xy} . A la fin de l'excitation, l'aimantation M revient à sa position d'équilibre (état inférieur), c'est la relaxation. M disparaît peu à peu sur le plan xy et décrit un mouvement hélicoïdal autour de Oz .

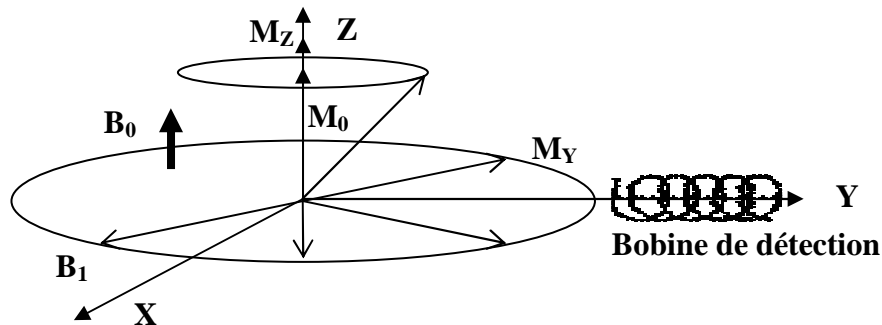


Figure 12 : Aimantation du proton sous l'effet de champs magnétiques.

L'IRM est une technique qui permet d'obtenir des informations anatomiques de très haute résolution spatiale. Cependant, afin de conserver une sensibilité de détection raisonnable, il est nécessaire de faire un compromis entre la durée de l'acquisition et la résolution temporelle. Selon le mode d'analyse des signaux IRM, on obtient soit une information anatomique de très haute résolution spatiale, soit des informations dites fonctionnelles (c'est-à-dire à la fois spatiales et temporelles) caractérisant le métabolisme énergétique ou la perfusion sanguine locale. La résolution spatiale sera alors moins bonne que dans le cas des informations anatomiques, mais en contre partie, on disposera d'informations temporelles caractérisant l'évolution du phénomène observé.

Dans le cas des informations anatomiques, l'IRM permet de caractériser la forme, le volume d'organe ou encore la structure des tissus, elle présente pour les tissus mous un contraste largement supérieur à celui observé pour l'imagerie X. L'IRM permet aussi de mesurer des paramètres fonctionnels liés au taux d'oxygénation de l'hémoglobine.

L'IRM est aussi utilisée pour tester l'effet de nouvelles molécules thérapeutiques sur le métabolisme énergétique ou le débit sanguin. Enfin, dans le cadre de l'imagerie moléculaire, l'IRM s'appuie sur l'injection d'agent de contraste ou de marqueurs magnétiques (anticorps associé à une nanoparticule).

L'IRM est donc une technique qui permet d'obtenir des informations anatomiques avec une très haute résolution spatiale, elle permet aussi la mesure de paramètres physiologiques et pharmacologiques. Elle présente cependant une résolution temporelle limitée de par sa sensibilité relativement faible ainsi qu'un coût élevé.

La figure 13 représente des images IRM 3D in vitro d'os humain à différents niveaux de résolution. L'image b apporte des connaissances pour le diagnostic de l'ostéoporose.

La figure 14 représente un dispositif IRM 3 Tesla fabriqué par Philips.

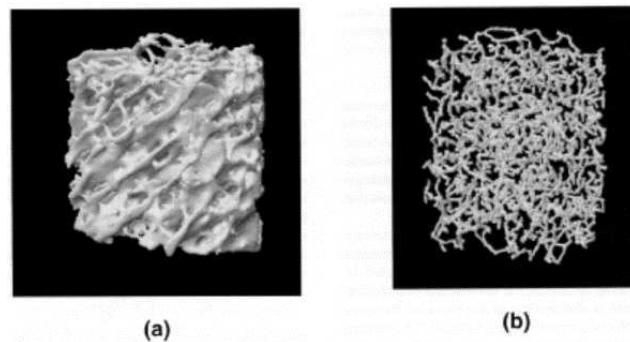


Figure 13 : Images IRM 3D in vitro d'os humain à différents niveaux de résolution.



Figure 14 : Machine IRM en géométrie fermée 3 Teslas PHILIPS.

II-2-2-3 L'imagerie nucléaire: la tomographie par émission de positons (TEP)

En imagerie nucléaire, on mesure au cours du temps la fixation spécifique d'un traceur radio marqué, par un isotope β^+ , en tomographie par émission de positons (TEP), ou un émetteur γ , en tomographie par émission mono photonique (TEMP). On a ainsi accès à une information spatiale sur l'endroit où s'est fixé le traceur et une information temporelle sur la cinétique de fixation du traceur. La construction de la molécule spécifique d'une cible biologique et son marquage est généralement réalisée par substitution ou ajout d'un atome radioactif à la molécule initiale ; elle nécessite l'intervention de chimistes et de radio chimistes. Le traceur injecté est le plus souvent du fluor ^{18}F incorporé à une molécule de glucose formant ainsi le ^{18}F -flurodéoxyglucose. Ce traceur semblable au glucose se fixe au niveau des tissus qui consomment de grandes quantités de ce sucre comme les tissus cancéreux, le muscle

cardiaque ou encore le cerveau. Le fluor 18 ainsi que les autres isotopes utilisés comme l'oxygène 15, l'azote 13, le carbone 11 ont en général une demie vie courte (110mn pour le fluor) et nécessitent un cyclotron pour leur production. L'atome radioactif, par exemple le fluor 18, se désintègre en émettant un positon qui, après un très court parcours, va s'annihiler avec un électron du milieu en émettant deux photons gamma de 511KeV qui partent dans des directions diamétralement opposées. Les photons d'annihilation sont détectés en coïncidence par des capteurs répartis sur une couronne autour du patient, ce qui permet de déterminer la ligne sur laquelle a lieu l'émission de photons et de localiser le lieu d'émission à l'aide du temps de parcours des photons jusqu'au capteur. Les données de détection sont ensuite transmises à un algorithme de reconstruction chargé de produire les images de la répartition du traceur sous forme bidimensionnelle ou tridimensionnelle. Les images obtenues sont dites d'émission et la résolution spatiale restituée est de plusieurs millimètres (4-7mm). Les avancées technologiques notamment sur les cristaux scintillants et les photo-détecteurs, ainsi que le développement et la réalisation d'architecture adaptée et plus compacte, ont permis d'obtenir des résolutions spatiales de quelques millimètres (1-2mm). Par ailleurs, il est possible d'améliorer la qualité des images en tenant compte de l'atténuation due aux tissus et structures traversées. Pour effectuer cette correction, on utilisait initialement des images de transmission obtenues à partir d'une source qui tournait rapidement autour du patient. Aujourd'hui, la plupart des caméras TEP sont équipées de scanner X, ce qui permet de superposer l'image fonctionnelle TEP avec l'image anatomique produite par le scanner X. La figure 15 représente des coupes 2D du cerveau du rat obtenues à partir d'un appareil TEP scan et caractérise l'activité dopaminergique (coloration rouge) responsable de la maladie de Parkinson. La figure 16 représente un appareil de TEP.

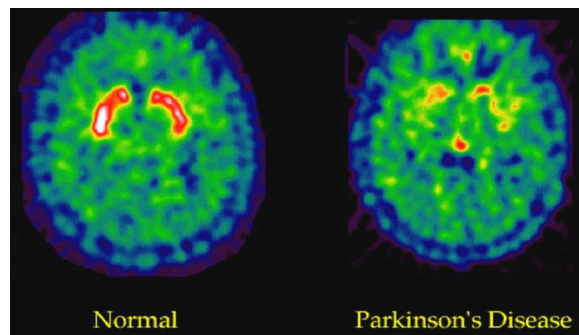


Figure 15 : Coupes 2D du cerveau du rat obtenues à partir d'une TEP et permettant de caractériser l'activité dopaminergique en rouge dans le striatum.



Figure 16 : Exemple de système TEP.

La TEP présente des atouts certains tels que son excellente sensibilité (10^{-11} - 10^{-12} moles/litre de traceur) et son efficacité de détection de sources localisées très profondément dans les tissus. Les inconvénients de la TEP sont sa faible résolution spatiale et sa lourdeur de mise en œuvre, nécessitant la présence d'un cyclotron à proximité, en raison de la courte demie vie des isotopes radioactifs utilisés.

II-2-2-4 Les techniques photoniques : l'imagerie optique moléculaire

L'étude de la propagation de la lumière à travers les tissus biologiques constitue depuis quelques années un domaine de recherche en expansion rapide. L'attrait de ces méthodes optiques par rapport aux autres méthodes existantes (RMN, radiographie, ultrasons, traceurs radioactifs) vient du fait qu'elles sont non ionisantes, non invasives, qu'elles permettent dans certains cas d'atteindre de hautes résolutions temporelles et spatiales et qu'elles sont en général peu onéreuses. La plupart des tissus biologiques possèdent une fenêtre spectrale de transparence, dite « fenêtre thérapeutique », dans le proche infrarouge, utilisée pour faire pénétrer de la lumière. Il existe cependant une difficulté pour ce type d'imagerie provenant du fait que les tissus sont des milieux fortement diffusants et que l'organisation des structures responsables de cette diffusion est complexe.

On peut imaginer les chemins que peuvent suivre les photons émis par une source impulsionnelle et se propageant à travers un ou plusieurs tissus vers un détecteur. Plusieurs types de trajectoires sont en effet possibles si on se limite dans un premier temps au mécanisme de diffusion :

- Les photons non diffusés ou « balistiques » se propagent en ligne droite dans le milieu et atteignent le détecteur après un temps $t_0 = d/v$ pour lequel d est la distance source détecteur et v la vitesse de l'onde dans le milieu. Leur nombre décroît de façon exponentielle avec l'épaisseur du tissu traversé, pour une puissance injectée constante.
- Les photons ayant subi peu d'évènements de diffusion ont une trajectoire plus compliquée et n'atteignent le détecteur qu'après un temps $t > t_0$. On parle alors de photons « serpentiles » qui se propagent de façon assez proche de la trajectoire balistique.
- Les photons diffusés, avec une trajectoire aléatoire, qui constituent une partie d'autant plus importante de l'énergie propagée que l'épaisseur de tissu traversée est grande.

Enfin, la répartition des photons dans les catégories mentionnées plus haut dépend de la nature des tissus traversés et de la longueur d'onde du photon. Pour faire de l'imagerie d'organes, il faut évidemment pénétrer en profondeur les tissus et donc choisir une longueur d'onde peu absorbée. C'est le cas des longueurs d'onde situées dans le rouge et le proche infrarouge, c'est-à-dire situées dans la fenêtre [600,1300nm] (Figure 17).

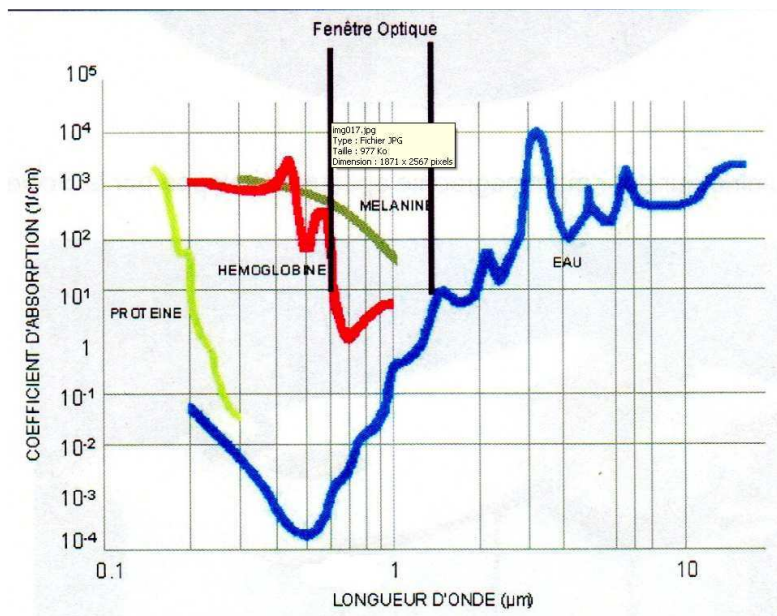


Figure 17 : Spectres d'absorption de différents chromophores dans les tissus biologiques.

Pour obtenir des informations sur la présence de tumeurs dans les tissus biologiques, la lumière peut schématiquement s'utiliser de trois manières. La première consiste à émettre des photons et à recueillir ceux qui traversent les tissus après d'éventuelles diffusions. Au bout du parcours, l'analyse des diverses modifications qu'ils ont subies produit une image de la structure interne traversée. L'ensemble des techniques fondées sur ce principe est regroupé sous le nom d'**imagerie optique par transillumination**. Mais on peut aussi, après l'envoi de lumière sur un tissu, recueillir les photons qui auront été réémis par un mécanisme de réflexion ou ceux émis par un mécanisme supplémentaire de bioluminescence ou de fluorescence. Dans ces deux dernières configurations, on parle d'**imagerie optique par réflectance** et dans le cas de la fluorescence, la source de lumière et le détecteur sont placés du même côté du tissu.

- L'imagerie optique par transillumination

L'utilisation de photons diffusés pour faire de l'imagerie permet en principe de tirer des informations de régions profondes des tissus, mais au détriment de la résolution spatiale. Lorsque l'épaisseur des structures tissulaires dépasse quelques millimètres, le phénomène de diffusion entraîne une perte de cohérence de la lumière émise par la source. Autrement dit, le détecteur n'est plus capable de localiser d'où viennent les photons qui lui parviennent, l'image est floue et inutilisable. Aujourd'hui, plusieurs techniques reposant sur des principes différents fournissent des résolutions spatiales satisfaisantes sur quelques centimètres d'épaisseur [IM: 2].

La première de ces techniques a été utilisée en mammographie et consiste à diviser la zone à explorer en petits cubes de 1mm de côté. Un faisceau laser balaie la zone à explorer, pendant qu'un détecteur placé de l'autre côté du sein effectue le même déplacement. En chacun des petits cubes, une mesure est réalisée. De la sorte en illuminant successivement chaque petit volume, on réduit d'autant l'effet de la diffusion. L'image globale est reconstruite en assemblant toutes les mesures individuelles à la fin du balayage. En général pour améliorer la résolution spatiale de

l'image obtenue, on peut réaliser une mesure supplémentaire à l'aide d'une autre longueur d'onde, l'atténuation du faisceau étant fonction de la longueur d'onde, on augmente ainsi la quantité d'informations afin de détecter une tumeur et d'en tracer les contours avec plus de précision. Ainsi Hamamatsu utilise deux longueurs d'onde (830nm et 630nm) sur le dispositif de mammographie qu'il a développé (Figure 18) [IM: 3].

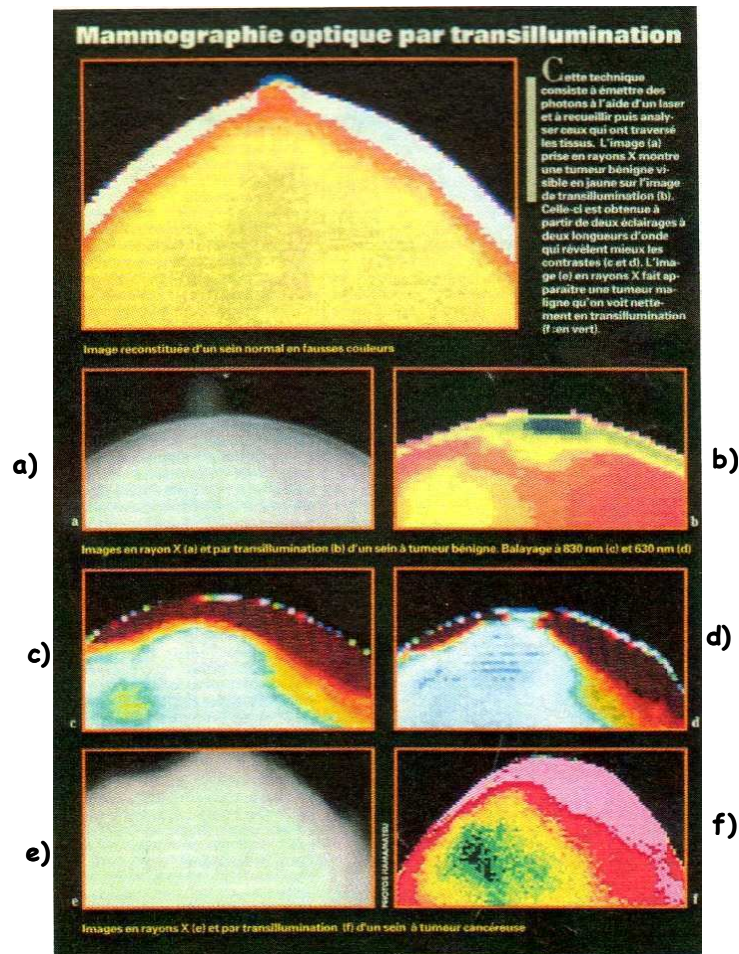


Figure 18 : Technique consistant à émettre des photons à l'aide d'un laser et à recueillir puis analyser ceux qui ont traversé les tissus.

a) montre l'image prise en rayons X, b) montre une tumeur bénigne visible sur l'image de transillumination, c) et d) montrent cette même image obtenue à deux longueurs d'onde 830 et 630nm avec un meilleur contraste, e) montre l'image en rayons X qui révèle une tumeur maligne, et que l'on voit nettement mieux en transillumination sur l'image f).

Une autre technique [IM :4] consiste à jouer sur le temps de vol des photons en utilisant une source de lumière émettant des impulsions brèves (de l'ordre de la femto ou de la picoseconde) associée à une porte temporelle (obturateur) capable de différencier les photons suivant leurs temps de vol. En effet, les photons pénétrant au même instant sur une face d'un organe, suivant la catégorie à laquelle ils appartiennent (balistique, serpentine, diffusé), n'atteignent pas le détecteur au même instant sur la face opposée (Figure 19). Par exemple, si on se base sur 5cm de tissu biologique, les photons dits balistiques auront un temps de vol de 170ps, les photons dits « serpentines » sont peu retardés par rapport aux premiers et mettront entre 240ps et 290ps, les photons diffusés arriveront sur le détecteur après 290ps.

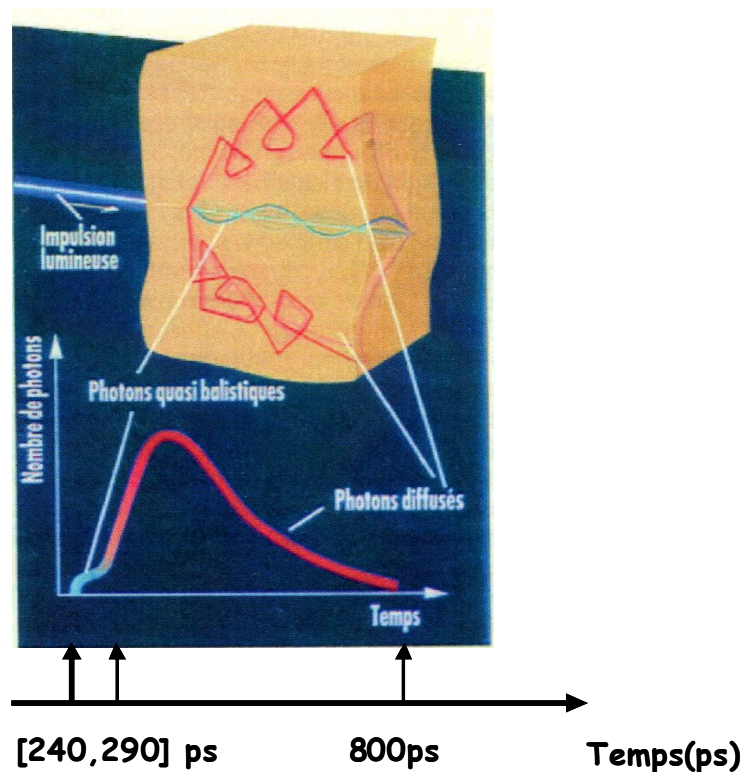


Figure 19 : Pour recueillir les photons quasi balistiques (serpentiles), qui seuls permettent d'obtenir une image nette, l'obturateur est ouvert pendant un très court instant.

Cette technique a été mise au point chez Mediphotonics Laboratory sur un prototype fonctionnant à 527nm de longueur d'onde avec des impulsions de 8ps. Le recueil des photons quasi balistiques s'effectue à l'aide d'une CCD refroidie équipée d'un obturateur dont le temps de réponse est de quelques picosecondes. L'avenir de ce type de technique dépend des avancées technologiques en matière de sources lumineuses à très courtes impulsions. La rapidité d'obtention d'une mesure devrait lui procurer un avantage certain sur les autres techniques de balayage décrites précédemment.

- **L'imagerie optique de luminescence : Les mécanismes de bioluminescence et de fluorescence**

En biologie, les sondes lumineuses sont largement utilisées et ont trouvé de nombreux domaines d'applications [IM: 5]. Par leur coût relativement faible, tant au niveau des molécules que de l'appareillage, les méthodes optiques avec des sondes lumineuses (bioluminescentes, fluorescentes, phosphorescentes) sont de plus en plus utilisées, remplaçant ainsi d'autres techniques comme les sondes isotopiques. Elles permettent de visualiser les mécanismes biologiques, que cela soit au niveau cellulaire ou au niveau d'un organisme entier. Cette technique d'imagerie optique est un domaine en pleine expansion avec des retombées directes en pharmacologie et le développement d'outils d'aide au diagnostic et de recherche en biologie moléculaire et cellulaire. La luminescence se caractérise par l'émission spontanée de photons par une substance ayant absorbée de l'énergie au cours d'une excitation non thermique. Parmi les plus utilisées, on peut citer, l'excitation par des longueurs d'onde de l'ultraviolet (UV), du visible, du proche infrarouge (NIR) ou de l'infrarouge (IR), par des réactions enzymatiques (bioluminescence). La luminescence est due à une désactivation d'une

molécule excitée vers un état énergétique moins élevé. Les mécanismes de désexcitation étant nombreux et variés, nous allons en décrire certains, en particulier la fluorescence et la bioluminescence.

○ La fluorescence

La fluorescence est caractérisée par l'émission de photons d'un atome ou d'une molécule excitée par une source de rayonnement extérieur. Le mécanisme de fluorescence est le suivant : les photons de la source extérieure sont absorbés par l'atome ou la molécule, qui passe de l'état fondamental à l'état excité. Cette absorption se fait très rapidement (environ 10^{-15} s). La relaxation à l'état excité de plus faible énergie se produit par échange thermique avec le milieu en environ 10^{-11} s. Ensuite, la perte d'énergie de chaque molécule se manifeste par une émission de photons, c'est la fluorescence.

Un mécanisme similaire à la fluorescence est le phénomène de phosphorescence intervenant entre un niveau singulet et un niveau triplet. Dans ce cas, le retour vers l'état fondamental est plus long (de quelques millisecondes à quelques secondes). Ainsi la phosphorescence aura une durée de vie plus longue qu'une fluorescence classique. Il est à noter qu'une molécule ayant des propriétés de phosphorescence aura également des propriétés de fluorescence. Les mécanismes de fluorescence/phosphorescence sont caractérisés par le spectre d'excitation de la source lumineuse extérieure et le spectre d'émission de la molécule excitée. Ces différents spectres sont représentés dans la figure 20.

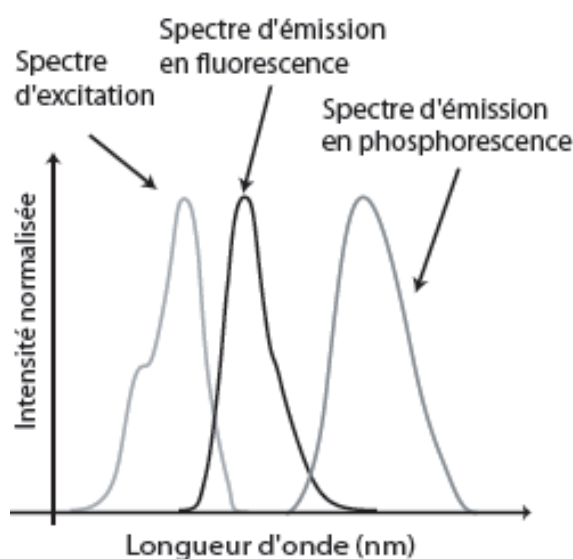


Figure 20 : Spectre d'excitation d'une molécule avec son spectre d'émission en fluorescence et en phosphorescence.

À la différence de la fluorescence, la durée de phosphorescence est grandement affectée par la température. À température ambiante, il est difficile de distinguer fluorescence et phosphorescence tant les temps d'émissions sont proches. Pour pallier ce problème, on peut avoir recours à la fluorescence retardée (cf Annexe C) qui est un phénomène plus complexe mais bien connu. La fluorescence retardée dure plus longtemps après la fin de l'excitation, tout en ayant le même spectre d'émission que celui observé en fluorescence spontanée, ce qui permet de différencier fluorescence retardée et phosphorescence.

Il existe une grande variété de sondes fluorescentes, chacune ayant des caractéristiques propres. Le choix du fluorophore dépend de nombreux critères : sa

couleur d'émission, son spectre d'excitation, son rendement quantique, sa stabilité optique et les possibilités de le greffer à l'objet d'étude.

Les fluorophores d'origine organiques sont principalement utilisés en tant que marqueurs lors d'expériences in vitro mais avec les développements récents de nouvelles sondes de la famille des Cyanines et des AlexaFluor, l'utilisation des fluorophores s'étend progressivement aux études in vivo. Il est en effet possible de suivre le ciblage de molécules par des méthodes optiques in vivo. Les fluorophores émettant dans le rouge et le proche infrarouge sont préférentiellement utilisés. Leur utilisation est extrêmement variée. On peut citer comme exemple, leur utilisation pour le suivi de la biodistribution et le ciblage d'anticorps, comme par exemple celui de l'arthrite avec les fluorophores NIR2[11] ou cyanine [IM: 6, 7]. La figure 21 montre quelques fluorophores utilisés.

Fluorophores	λ_{ex}	λ_{em}
Allophycocyanin (APC)	650	660
Fluorescein-Isothiocyanate (FITC)	490	520
Rhodamine B-Isothiocyanate (RITC)	570	595
Texas Red	596	620
Cy 3	552	565
Cy 5	650	667
Cy5.5	675	694
Cy7	743	767
AlexaFluor 488	495	519
AlexaFluor 546	556	573
AlexaFluor 647	650	668
AlexaFluor 750	749	775
Fluorescamine	390	460
Eosin-Isothiocyanate	524	548
Acridine Orange	490	530, 640
4, 6-Diamidino-2-Phenylindole HCl (DAPI)	372	456
Ethidium Bromide	545	605
Hoechst 33258	365	465
Propidium Iodide	530	615
Ethidium Bromide	545	605
Evans Blue	550	610

Figure 21 : Exemples de fluorophores. λ_{ex} représente la longueur d'onde d'excitation λ_{em} la longueur d'onde d'émission.

Comme alternative aux fluorophores organiques, on utilise aussi les « Quantum Dots » (QDs) qui sont des nanoparticules inorganiques (cf Annexe D), composés d'un cœur semiconducteur inorganique, responsable de l'émission lumineuse, auquel est associée une coquille inorganique afin d'augmenter le rendement quantique et d'accroître la stabilité de leurs propriétés optiques. La taille du cristal est d'environ 20nm ; par rapport aux fluorophores classiquement utilisés, les QDs ont un meilleur rendement quantique et une meilleure stabilité d'émission. Les applications des QDs sont vastes. De nombreuses expériences tant in vitro (marquage cellulaire, ciblage par anticorps) qu'in vivo (ciblage tumorale) ont été rapportées dans la littérature.

Une autre technique repose sur le principe du gène rapporteur luminescent, qui consiste à faire produire par l'organisme d'étude, soit directement une protéine luminescente pour marquer une cellule, soit une protéine comportant le gène d'intérêt et un gène rapporteur luminescent permettant sa visualisation. Les protéines fluorescentes sont devenues un outil indispensable pour explorer les processus cellulaires dans les expériences in vitro et in vivo impliquant des animaux. Il est en effet possible de sonder une grande variété de signaux grâce à la diversité des protéines existantes permettant l'étude de la localisation protéique, de la physiologie cellulaire ou des interactions

protéiques. La plus connue des protéines fluorescentes est la GFP (Green Fluorescent Protein) qui a été découverte par Shimura dans les années 60 [IM :8]. Le spectre d'émission (Figure 22) de la GFP possède un maximum à 508nm avec deux bandes d'excitation à 395 et 470nm.

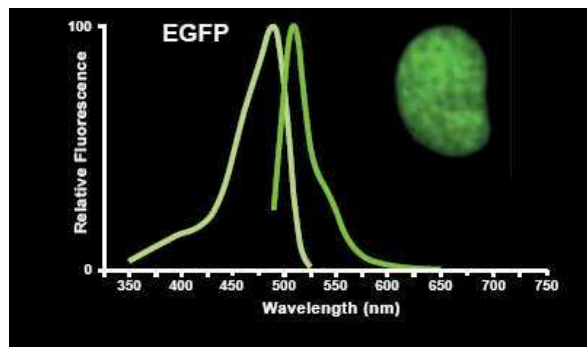


Figure 22 : Spectres d'excitation et d'émission de la GFP.

Le clonage du gène de la GFP [IM :9], puis la démonstration qu'il est possible d'exprimer cette protéine dans d'autres organismes [IM :10,11] ont permis l'utilisation des propriétés de fluorescence de la GFP in vivo. Une autre protéine émettant dans le rouge profond plus propice à la détection in vivo, la DsRed (Discomamia coral Red) a été découverte par Matz [IM: 12, 13]. La figure 23 montre les spectres d'excitation et d'émission de la DsRed.

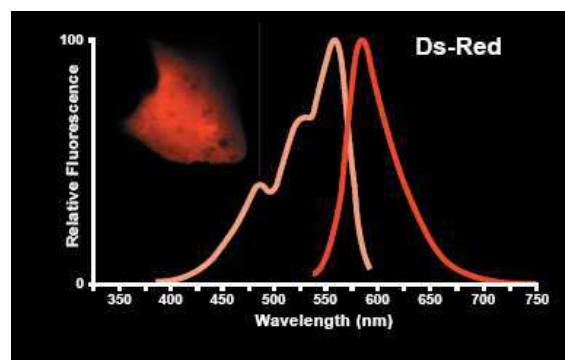


Figure 23 : Spectres d'excitation et d'émission de la DsRed.

○ La bioluminescence

Le phénomène de bioluminescence correspond à une émission de photons grâce à une excitation de type enzymatique. Elle représente une alternative intéressante à la fluorescence pour le suivi de l'expression ou de la régulation d'un gène. L'avantage vient du fait que, ne nécessitant pas d'excitation lumineuse externe, elle permet d'obtenir des signaux non bruités par l'autofluorescence due à l'interaction de la source d'excitation avec les tissus. Le gain en rapport signal sur bruit est donc important. Il existe de nombreux systèmes bioluminescents tous caractérisés par un couple enzyme-substrat particulier. La luciférase de luciole (FLuc pour Firefly Luciférase- substrat : Luciférine) est certainement la plus utilisée avec la luciférase de pensée de mer (RLuc pour Renilla Luciférase- substrat : Coelentérazine). A cela s'ajoutent l'aéqurine de méduse, du taupin (petit coléoptère) ou de bactéries (*Vibrio fischeri*, *V. harveyi*).

Cette diversité de couples enzymes-substrats permet de marquer différemment deux types cellulaires à l'aide de gène rapporteur bioluminescent. En effet, si un type

cellulaire est marqué avec de la luciférase Firefly et un autre avec de la luciférase Renilla, l'injection de luciférine n'engendrera une bioluminescence qu'au niveau des cellules exprimant la luciférase Firefly, tandis que les autres ne seront visibles que par injection de coéluentérazine. Un exemple de cette stratégie des rapporteurs doubles a été donné par S. Bhaumik et S.S. Gambhir [IM: 14] (Figure 24).

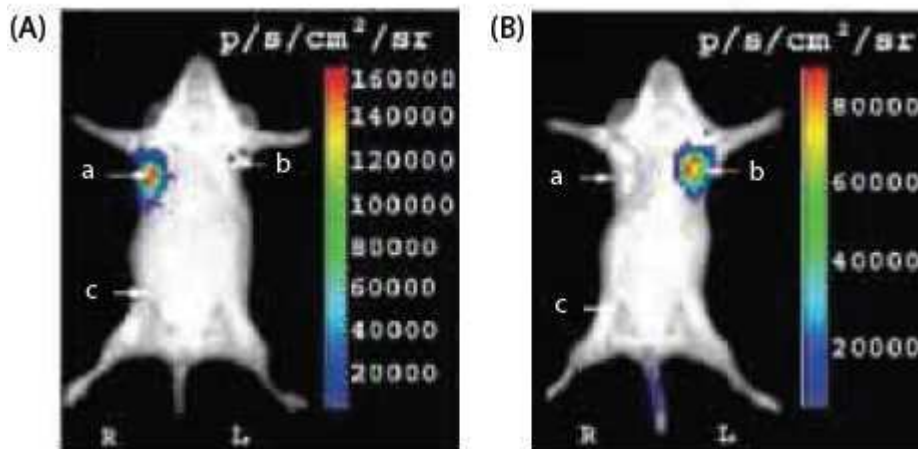


Figure 24 : Principe de la stratégie du rapporteur double.

Sur la même souris, des cellules transfectées avec les gènes de la luciférase Firefly et de la luciférase Renilla ont été implantées en sous cutanée respectivement en a et b tandis que les mêmes cellules non transfectées ont été implantées en c. Après injection de Luciférine (Image A) seule, la zone exprimant la FLuc est émettrice tandis que l'injection de coéluentérazine (Image B) marquera spécifiquement la localisation des cellules exprimant la RLuc. Les cellules non transfectées ne produiront dans tous les cas aucun signal [IM: 14]. L'imagerie de bioluminescence a de nombreuses applications utilisant le système luciférine/luciférase notamment dans le marquage de cellules cancéreuses. Ces cellules tumorales sont implantées chez un animal et lors de l'injection de luciférine, la tumeur produira une quantité de lumière proportionnelle au nombre de cellules présentes. Ce type de marquage permet ainsi de visualiser et de quantifier l'évolution d'une tumeur et d'évaluer l'efficacité d'un traitement.

- Instrumentation utilisée en imagerie optique de réflectance

Les intensités que l'on retrouve en imagerie optique varient énormément entre bioluminescence et fluorescence. En bioluminescence, les flux lumineux sont de l'ordre de 10^3 à 10^6 photons /s/stéradian/cm². Bien qu'en fluorescence, les flux soient multipliés par 1000, l'utilisation de caméra CCD haute sensibilité est nécessaire.

On peut classer les différents types de caméra CCD en deux grandes catégories selon leur fonctionnement :

- Par intégration de charges
- Par multiplication d'électrons

La méthode d'intégration de charges consiste à augmenter la sensibilité du capteur par une augmentation du temps d'exposition. Les caméras CCD refroidies utilisent ce principe d'intégration. Pour la méthode de multiplication d'électrons, la sensibilité accrue provient de la démultiplication du nombre d'électrons créés pour chaque photon reçu. On trouve dans cette catégorie les CCD intensifiées (ICCD), les EB-CCD

(par bombardement d'électrons), ou les EM-CCD (multiplication d'électrons). Les caméras à multiplication d'électrons présentent l'avantage de pouvoir effectuer des captures d'images à une cadence de 25 à 30 images par seconde.

- **Caméra CCD refroidie**

Une caméra CCD refroidie diffère d'une caméra CCD classique dans la manière dont sont traitées trois composantes du bruit : bruit de lecture, bruit thermique et bruit sur le signal qui est de type Poisson. Le bruit de lecture peut être éliminé par une lecture ralentie et par une amélioration des composants électroniques. Le bruit thermique correspond au courant d'obscurité. Pour diminuer ce type de bruit, qui dépend de la température, il est nécessaire de refroidir le capteur jusqu'à des températures pouvant atteindre -100 degrés Celsius. Le bruit correspondant à l'incertitude de la mesure varie en \sqrt{N} (N étant le nombre moyen d'événements détectés). Ainsi, plus les signaux seront faibles, plus le bruit sera important. Pour limiter cet effet, le capteur doit avoir un bon rendement quantique. On utilise dans ce cas des capteurs CCD à exposition arrière et à substrat aminci (back thinned illuminated CCD) par rapport aux « front-illuminated » CCD classiques (système IVIS développé et commercialisé chez XENGEN).

- **Caméra CCD intensifiée**

Le signal lumineux est transformé en électrons au niveau de la cathode. Ces électrons sont ensuite multipliés dans une galette de micro canaux. Chaque électron en passant dans un micro canal engendre un nuage d'électrons qui est projeté sur un écran fluorescent créant ainsi une lumière amplifiée. Une lentille ou une série de fibres optiques renvoie ensuite la lumière sur une CCD classique (c'est le Photon Imager de Biospace).

- **Caméra EB-CCD**

Le principe de fonctionnement des EB-CCD est relativement simple. Une fois le photon converti, l'électron résultant est accéléré par une forte différence de potentiel entre la photocathode et une CCD à exposition arrière. L'énergie de la collision engendre la création de plusieurs électrons. L'inconvénient de cette technique est le risque de dégradation rapide du détecteur à cause de l'énergie qu'il doit pouvoir supporter.

- **Caméra EM-CCD**

Cette technologie utilise la multiplication des électrons au niveau de la CCD. Ainsi à la lecture, un électron à l'entrée est converti en quelques milliers de photons à la sortie. Cette technologie est extrêmement sensible à la température et nécessite un système de refroidissement stable.

- **TCSPC**

Le mode de comptage de photon unique corrélé dans le temps, « Time Correlated Single Photon Counting », est une technique de comptage dont le principe consiste à différencier les photons en fonction de leurs temps. Quand un photon est détecté, le temps correspondant au signal émis par le détecteur est mémorisé (ainsi que sa

position en x , y). Un seul photon à la fois est détecté de manière à obtenir un histogramme (Figure 25) de distribution du nombre de photons en fonction du temps.

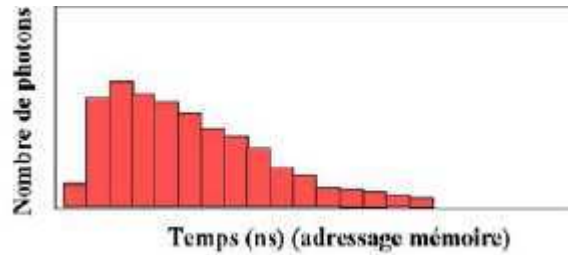


Figure 25: Histogramme du nombre de photons en fonction du temps d'arrivée.

II-2-3 L'imagerie optique chez le petit animal

II-2-3-1 Les modèles animaux en recherche biomédicale

Dans la démarche scientifique biomédicale, le modèle expérimental intervient à différents niveaux d'expérimentation du microscopique (molécule, cellule) au macroscopique (organe, organisme). Il s'agit d'obtenir une représentation d'un système biologique qu'il n'est pas possible d'étudier directement pour des raisons éthiques, techniques ou économiques. Pour l'instant, les techniques d'imagerie optique ne sont pas applicables directement chez l'homme. Parce qu'au cours des quinze dernières années, il s'est avéré que de nombreux modèles animaux miment les pathologies humaines, celui-ci joue un rôle clé en pathologie. Il va permettre à partir de la reproduction d'une pathologie humaine de tester des hypothèses sur les causes, les mécanismes et la thérapie. Cependant pour garder une démarche rigoureuse, le modèle doit répondre à un certain nombre de critères avant d'être validé. En premier lieu, il doit satisfaire au critère d'isomorphisme, c'est-à-dire que les symptômes observés chez l'animal doivent être semblables à ceux observés chez l'humain. Le modèle doit également présenter des mécanismes et des causes identiques à ceux observés chez l'homme si ceux-ci sont connus. Enfin, le modèle doit répondre de la même manière que l'homme aux différents traitements aussi bien positivement que négativement. Par exemple, l'administration de L-dopa doit réduire les symptômes Parkinsoniens chez un modèle animal qui a pour finalité de mimer cette pathologie. La limite de l'analogie dépend cependant de la posologie qui doit être adaptée à l'animal en tenant compte des différences physiologiques avec l'homme. Ainsi l'étude des modèles animaux aboutit à mieux connaître les mécanismes et les causes d'une pathologie et conduit souvent à affiner le modèle initial [IM: 15].

II-2-3-2 Les contraintes et les limitations de l'imagerie optique chez le petit animal

L'imagerie optique chez le petit animal rencontre des contraintes et des limitations de plusieurs types. Tout d'abord, l'imagerie animale présente des contraintes spécifiques qui autorisent rarement la transposition immédiate des techniques d'imagerie clinique. Ensuite, il y a les contraintes liées à l'imagerie optique elle-même. Ces contraintes dépendent des sondes optiques utilisées mais aussi des environnements extrêmement complexes que sont les milieux biologiques.

- Les contraintes propres à l'imagerie animale

La contrainte la plus évidente est liée aux dimensions réduites des structures étudiées. A titre d'exemple, la différence d'échelle entre les structures cérébrales de l'homme (quelques cm) et du rat (quelque 100µm voire quelque 10µm pour la souris) impose une amélioration de la résolution spatiale. Ce gain en résolution spatiale implique un volume d'analyse plus petit et donc, à concentration égale, un nombre de molécules détectables plus petit. Il est donc nécessaire de mettre au point des systèmes de très hautes sensibilités. Enfin, il faut considérer une dernière contrainte qui est d'immobiliser l'animal durant l'acquisition d'images et c'est le rôle de l'anesthésie avant toute expérience d'imagerie in vivo. Or l'anesthésie présente certains inconvénients et notamment elle peut perturber les phénomènes étudiés.

- Les contraintes liées aux sondes optiques

La première limitation est due au fait que le fluorophore n'est pas indéfiniment stable : il est détruit après un certain nombre de cycles excitation-émission. Le développement récent de nouvelles classes de fluorophores chimiques tels que les « Alexa Fluor » ou les cyanines permettent un temps de vie plus long. Une autre limitation provient du fait que les molécules fluorescentes sont sensibles à leur environnement et le nombre de facteurs influençant les propriétés optiques des sondes fluorescentes sont nombreux (Ph, polarité du solvant...). Ainsi les spectres d'excitation et d'émission des fluorophores se trouvent souvent considérablement altérés par ce facteur.

- Les contraintes liées aux milieux biologiques

Trois grandes contraintes vont limiter l'utilisation de l'imagerie optique in vivo. La première, est l'autofluorescence des tissus qui correspond à un phénomène d'absorption et de réémission des tissus. La deuxième limitation est l'absorption de la lumière par l'ensemble des constituants des tissus et enfin la dernière limitation est la diffusion de la lumière par les structures des tissus qui empêchent une localisation précise du signal. L'inconvénient de l'autofluorescence des tissus est qu'il est difficile de discriminer le signal utile provenant du fluorophore de celui qui provient de l'autofluorescence. Pour pallier à ce problème, on utilise des longueurs d'onde longues (rouge, infrarouge) qui produisent moins d'autofluorescence que des longueurs d'onde courtes (bleu, vert). La figure 26 montre l'autofluorescence d'une souris soumise à plusieurs sources lumineuses avec différentes longueurs d'ondes.

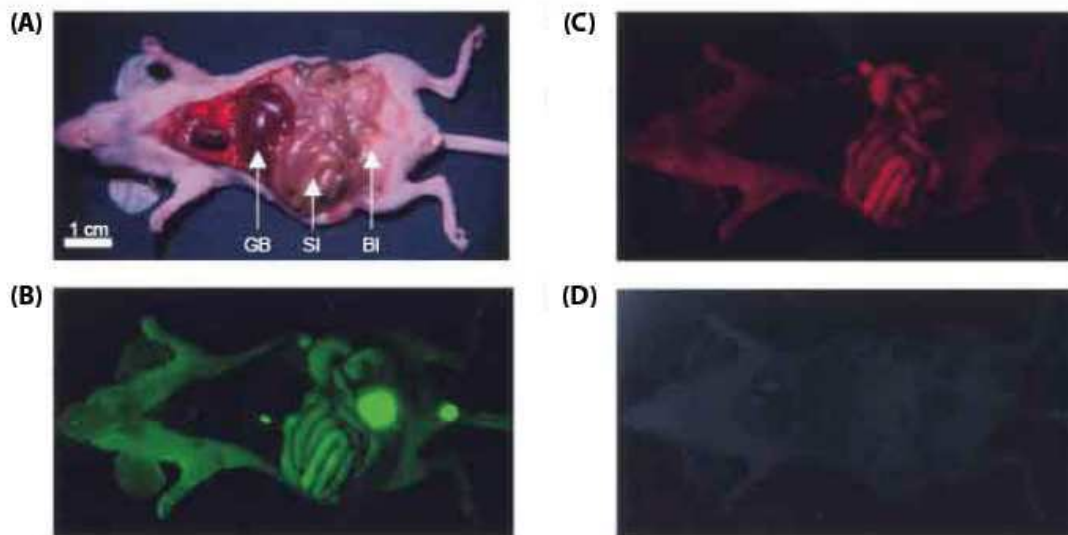


Figure 26 : Autofluorescence d'une souris (A) lumière blanche (B) filtre bleu/vert (450-500nm/505-560nm) (C) vert/rouge (525-555nm/590-650nm) (D) infrarouge (725-775nm/790-830nm) [68].

De même, travailler avec des longueurs d'ondes comprises entre 600nm et 1300nm limite le phénomène d'absorption et augmente le nombre de photons détectés. Toutefois, il est conseillé de travailler sur des fluorophores fonctionnant entre 650 et 900nm afin de répondre aux limitations du dispositif de détection. En effet, pour la plupart des caméras CCD, le rapport quantique entre le nombre de photons incidents et le nombre de photons détectés décroît rapidement au-delà de 900nm. En imagerie optique, si on travaille avec des longueurs d'ondes où le phénomène d'absorption est faible (rouge, infrarouge), la diffusion de la lumière prend une part importante dans l'atténuation totale. Pour un tissu standard et une émission dans le rouge, l'information sur la direction de provenance d'un photon est perdue au bout de 2mm. La diffusion est donc le paramètre qui limite le plus la détermination précise de la position d'une source lumineuse au sein d'un tissu biologique.

II-2-4 Les technologies existantes en imagerie optique

Comme nous venons de voir, les deux principaux paramètres nuisibles pour l'imagerie optique sont le signal d'autofluorescence qui limite la sensibilité du dispositif de détection et le phénomène de diffusion qui rend difficile la quantification et la localisation d'une source lorsque celle-ci est à des profondeurs atteignant quelques millimètres. Parmi les technologies palliant aux limitations de l'imagerie optique, on peut en citer trois qui sont actuellement les plus utilisées.

- Spectroscopie résolue dans le temps (« Time resolved » ou en excitation pulsée) :

Cette technique consiste à séparer les photons multidiffusés de ceux qui ne subissent qu'un nombre très faible d'interactions [IM : 16]. Afin d'obtenir un rapport signal sur bruit suffisant, il est nécessaire d'éliminer les photons multidiffusés. La sélection se fait de manière temporelle : les photons sont classés en fonction du temps mis pour émerger de la surface du petit animal. On mesure, à l'aide d'un pulse de lumière de l'ordre de 1ps, la distribution temporelle des photons TPSF (Temporal Point Spread Function) qui ont traversé une certaine épaisseur de tissu (Figure 27).

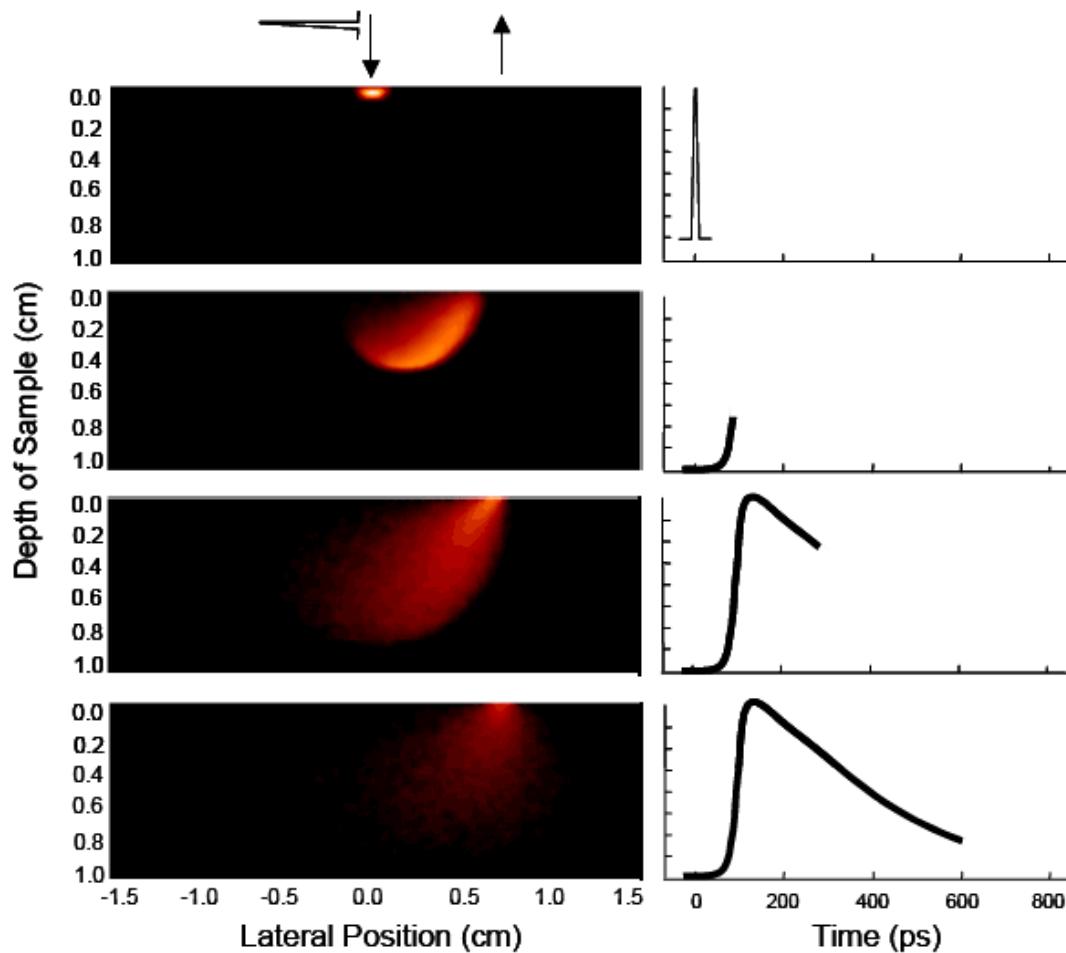


Figure 27 : Distribution temporelle des photons provenant d'un pulse de lumière de 1 ps se propageant d'un point situe à 0 cm et ressortant à 0.7cm. les caractéristiques optiques du tissu sont 0.006mm^{-1} pour le coefficient d'absorption et de 1mm^{-1} pour le coefficient de diffusion.

Cette distribution temporelle peut être interprétée comme une distribution statistique prenant en compte toutes les interactions possibles qu'un photon peut avoir depuis son émission jusqu'à ce qu'il atteigne la surface du tissu.

En analysant la forme et l'intensité de la TPSF, on remonte ainsi aux propriétés optiques du tissu traversé. La figure 28 représente les changements de la distribution théorique du temps de vol des photons sous l'effet des phénomènes de diffusion et d'absorption.

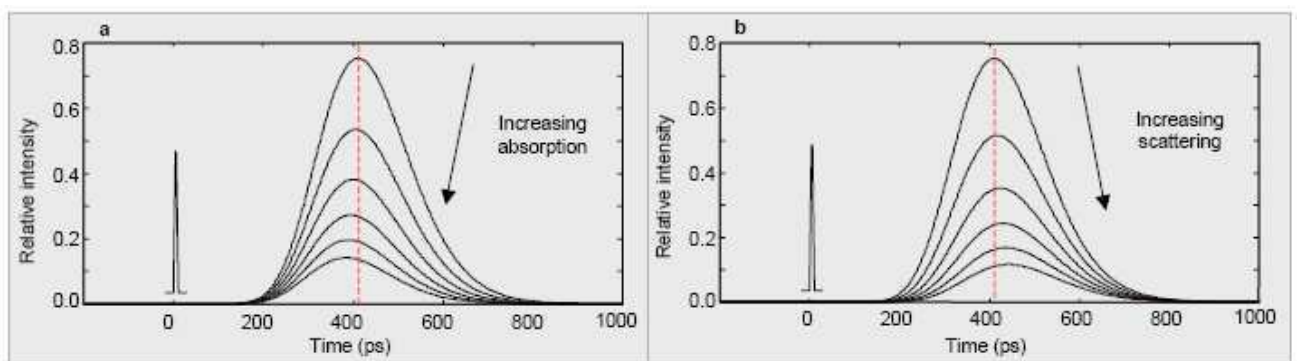


Figure 28 : Effets des phénomènes de diffusion et d'absorption sur la distribution théorique du temps de vol des photons. Le maximum d'intensité se déplace dans les directions indiquées sur la figure selon qu'il s'agit de la diffusion ou de l'absorption.

Les avantages d'une telle technique, par rapport à un dispositif d'imagerie classique en excitation continue, sont sa capacité à localiser une source en profondeur et à la quantifier. Mais l'instrumentation associée à cette technique est en général complexe et coûteuse car elle nécessite des mesures de temps très courts (temps de propagation dans les tissus de l'ordre de 1 à 100 ps) et utilise généralement une source pulsée couplée à un photomultiplicateur à galette de microcanaux.

- Spectroscopie résolue spatialement

Cette technique consiste à utiliser des données spectrales [IM: 17] pour, à la fois séparer le signal d'autofluorescence du signal utile et estimer la localisation de la source avec plus de précision. Le dispositif d'imagerie va restituer des images du même domaine d'observation dans plusieurs longueurs d'ondes /bandes spectrales. On différenciera le signal d'autofluorescence à partir de sa signature spectrale. De même, on déterminera la localisation de la source (Figure 29) à partir des déformations des spectres [IM: 18] provenant de la source localisée dans un milieu diffusant entre leurs points d'émission et leurs points de sortie à la surface du petit animal. L'instrumentation associée à cette technique utilise une source d'excitation continue couplée à une CCD ultra-sensible.

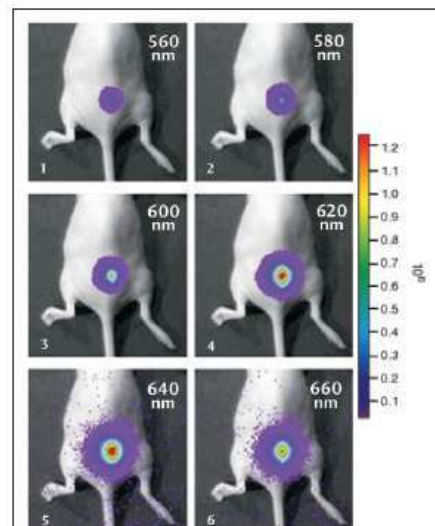


Figure 29 : Images à différentes longueurs d'ondes restituées par un système IVIS 200 commercialisé par la société XENOGEN (USA).

Les caractéristiques et les éléments dimensionnant des dispositifs d'imagerie s'appuyant sur cette technologie seront présentés dans le chapitre III. Le développement et l'optimisation des méthodes numériques de traitement d'images s'appuyant sur l'analyse spectrale seront décrites dans le chapitre V.

- Imagerie multimodale

Cette technique consiste à coupler un dispositif d'imagerie optique avec un autre type d'imagerie telle que par exemple la TEP ou l'IRM. À titre d'exemple, le couplage imagerie optique-IRM permet de superposer des informations anatomiques avec de hautes résolutions spatiales fournies par le dispositif IRM et des informations fonctionnelles avec de hautes résolutions temporelles fournies par le dispositif d'imagerie optique (cf. Annexe E).

La figure 30 représente un récapitulatif des différentes techniques d'imagerie moléculaire considérées précédemment :

Techniques d'imagerie	Scanner X	TEP	IRM	Imagerie optique	
				Fluorescence	Bioluminescence
Energies Longueur d'onde	50-70KeV	0.5-2MeV Emetteur final: 511 KeV	2-20 MhZ (Animal jusqu'à 400MhZ)	400-1300nm	400-800nm
Origine du contraste	Abs différentielle des RX	Concentration en isotopes injectés	Densité et environnement Des protons	Concentration en fluorophores	Concentration en sondes bioluminescentes
Résolution spatiale	50µm à 200µm	1 à 2mm	25µm à 100µm	1 à 3mm	3mm à 5mm
Profondeur accessible	Corps entier	Corps entier	Corps entier	0.2-1cm	1-5cm
Applications À l'homme	oui	oui	oui	oui	non
Quantité détectable	Pas bien caractérisé	10^{-11} - 10^{-12} mole/L	10^{-3} - 10^{-5} mole/L	10^{-9} - 10^{-12} mole/L	10^{-15} - 10^{-17} mole/L
Sensibilité	Varie selon les tissus +++	++++	Varie selon les tissus +++	Varie fortement selon les tissus et la profondeur De + à +++++	Varie fortement selon les tissus et la profondeur De + à ++++
Type d'imagerie	Anatomique	Fonctionnelle	Anatomique/ Fonctionnelle	Fonctionnelle	Fonctionnelle
Résolution temporelle	qq minutes	qq dizaines de secondes	qq dizaines de minutes	qq dizaines de secondes	qq dizaines de secondes
Avantages Inconvénients	Applications moléculaires limitées	Faible résolution spatiale; nécessite un cyclotron Haute sensibilité	La meilleure résolution spatiale Information Anatomiques/ Fonctionnelles	Faible résolution spatiale Haute sensibilité	Faible résolution spatiale La meilleure sensibilité

Figure 30 : Récapitulatif des caractéristiques des différentes techniques d'imagerie moléculaire.

III-Les techniques d'imagerie utilisées en FCI et en imagerie moléculaire

Dans cette partie, seront présentés les principes, le dimensionnement et la description des dispositifs expérimentaux, puis une méthode d'analyse des données expérimentales sera proposée.

III-1- Position du problème

D'une manière générale, les spécificités d'un système d'imagerie sont définies à partir des caractéristiques de l'objet à imager (taille, type et caractéristiques du rayonnement émis), de ce que l'on veut observer et avec quel degré de précision.

La restitution des résultats dans le plan objet nécessite, d'une part la mise au point d'outils numériques destinés à corriger l'(es)image(s) expérimentale(s) obtenue(s) sur le détecteur des effets induits par le dispositif expérimental, et d'autre part la conception de techniques mathématiques spécifiques destinées à transposer dans le plan objet les résultats obtenus dans le plan du détecteur.

Les paramètres à optimiser sont la résolution spatiale et/ou temporelle et le rapport signal sur bruit. Ces paramètres étant antagonistes, la difficulté consiste à définir les spécificités du système d'imagerie pour réaliser un compromis satisfaisant entre ces deux grandeurs au regard des caractéristiques de la source et des précisions demandées.

III-1-1- La technique d'imagerie neutronique utilisée dans le cadre de la FCI

La finalité du dispositif d'imagerie appliqué au domaine de la FCI est de restituer la forme et la distribution d'intensité du cœur comprimé où prennent naissance les réactions de fusion. Le vecteur d'information utilisé est l'émission neutronique qui constitue le facteur le plus fiable pour caractériser le milieu en fusion lors de l'implosion de la cible DT. Le dispositif d'imagerie doit nous permettre, suivant l'installation considérée, d'analyser des zones dont la taille se situe dans la gamme [20, 100] μm avec une résolution spatiale comprise entre 10 et 100 μm pour un flux de neutrons intégré sur la durée de l'émission neutronique allant de 10^9 à 10^{19} neutrons dans les 4π .

La résolution spatiale restituée est toujours supérieure à la résolution géométrique du dispositif d'imagerie qui est la résolution ultime que l'on peut espérer obtenir. La résolution spatiale restituée par le dispositif et le rapport signal sur bruit sont deux paramètres qui varient en sens inverse l'un de l'autre par rapport à la résolution géométrique qui dépend essentiellement de la taille des pixels du détecteur et des paramètres géométriques de dimensionnement du dispositif. La définition du dispositif d'imagerie consistera donc à déterminer la taille optimum des pixels détecteurs et à ajuster les paramètres géométriques du système de manière à atteindre un rapport signal sur bruit et une résolution spatiale, compte tenu des caractéristiques de la source (taille, émission), en accord avec les précisions demandées.

III-1-2- La technique d'imagerie utilisée dans le cadre de l'imagerie moléculaire de fluorescence

La finalité du dispositif d'imagerie optique appliqué à l'imagerie moléculaire est de localiser, de quantifier et de suivre en temps réel une population de marqueurs dans le corps du petit animal. Dans le cas de la fluorescence où l'émission de photons est déclenchée par une source d'excitation extérieur, le signal mesuré au niveau du détecteur est le résultat de la superposition du signal d'émission de la sonde fluorescente et d'un signal parasite d'autofluorescence dû à l'interaction de la source d'excitation avec les tissus biologiques. Les processus de diffusion et d'absorption des photons, lorsqu'ils interagissent avec les tissus vivants, conditionnent les caractéristiques des différentes composantes du signal mesuré et dépendent de la longueur d'onde. Le rapport signal sur bruit et la résolution spatiale, définie comme étant la largeur à mi hauteur de la zone émissive dans le plan tangent à la surface du petit animal, sont deux paramètres, qui pour une profondeur de source donnée, varient en sens inverse l'un de l'autre par rapport à la longueur d'onde du signal mesuré. D'autre part, l'analyse du signal mesuré et la différenciation de ses composantes, ainsi que l'estimation de la profondeur de la source, ne peuvent se faire que par l'exploitation des différents spectres émis. Il sera donc nécessaire d'utiliser un dispositif d'imagerie capable de fournir des données spectrales et utilisant un marqueur fluorescent émettant dans une gamme de longueur d'onde pouvant réaliser un compromis satisfaisant entre la résolution spatiale et le rapport signal sur bruit.

III-2- L'imagerie neutronique dans le cadre de la FCI

III-2-1- Le concept d'imagerie pénombre

III-2-1-1 L'imagerie pénombre

La technique d'imagerie répondant aux spécificités requises pour l'ouverture est une technique d'imagerie dite de pénombre basée sur le principe suivant [FCI: 20,21]: le diamètre du diaphragme est supérieur au diamètre de l'objet observé (Figure 31). L'image obtenue est alors composée d'une zone de pleine lumière frangée par une zone de pénombre dans laquelle l'information sur la répartition spatiale de la source est convoluée avec la fonction de transfert du diaphragme.

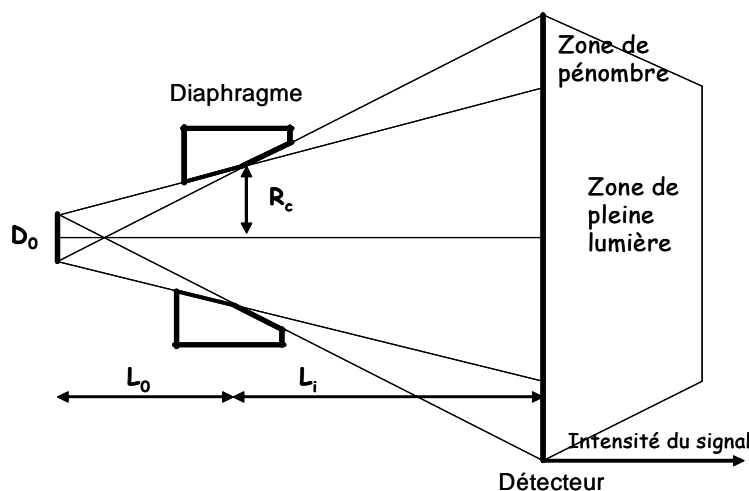


Figure 31 : Concept de l'imagerie pénombre.

D_0 est le diamètre du champ d'observation, L_0 est la distance entre la source et le diaphragme, L_i est la distance entre le diaphragme et le plan de détection et R_c est le rayon du diaphragme.

Le rayon R_c du diaphragme doit vérifier la condition de pénombre :

$$R_c > \frac{GD_s}{2(G+1)} \quad (10)$$

où $G = L_i/L_0$ (avec les notations de la figure 31) représente le grandissement du système, D_s la dimension prévisible de la source à l'intérieur du champ d'observation D_0 . La résolution géométrique ou résolution spatiale théorique Δs_g obtenue avec cette technique peut s'écrire :

$$\Delta s_g = \frac{2\Delta d}{G} \quad (11)$$

où Δd est la taille du pixel dans le plan de détection.

On en déduit le nombre d'éléments de résolution géométrique contenus dans la source.

$$N_p = \left(\frac{D_s}{\Delta s_g} \right)^2 \quad (12)$$

où D_s est la taille estimée de la source.

III-2-1-2 Les spécificités du dispositif expérimental requis

Comme la plupart des dispositifs d'imagerie optique classiques, le dispositif expérimental d'imagerie neutronique est composé d'une optique ou diaphragme et d'un système de détection et d'enregistrement chargé de détecter les neutrons, de les convertir en photons puis en photoélectrons, de manière à produire un signal électrique mesurable.

La nature très pénétrante des neutrons de 14MeV issus du cœur et la taille micrométrique de la source font que l'obtention d'une résolution spatiale acceptable nécessite une optique avec les particularités suivantes:

- Une épaisseur égale à plusieurs libre-parcours de neutron dans le matériau dont l'ouverture est composée afin d'obtenir un bon contraste.
- Un grand diamètre (diamètre plus grand que la taille de la source) de manière à obtenir une bonne qualité d'image en termes de niveau de signal et de rapport signal sur bruit.
- Une bonne isoplanaticité dans le champ d'observation (c'est-à-dire une fonction de transfert spatialement invariante) ce qui permet d'utiliser la transformée de Fourier pour la reconstruction de la source dans le plan de la cible.

Le système de détection-enregistrement est caractérisé par son efficacité de détection (rapport du nombre de neutrons détectés sur le nombre de neutrons incidents) et sa sensibilité (nombre de photoélectrons créés par neutron détecté).

III-2-2- La formation de l'image. Le codage de l'information

La figure 32 représente la structure d'une image de pénombre dans le plan de détection ainsi qu'un profil d'intensité normalisé à 1 passant par le centre de l'image [FCI: 22,23].

L'image de pénombre est composée de trois zones :

- Une zone de pleine lumière d'intensité constante dans laquelle chaque pixel reçoit les neutrons directs issus de tous les éléments résolvant de la source.
- Une zone de pénombre dans laquelle l'intensité décroît de l'intensité de la zone de pleine lumière vers une intensité correspondant à la zone dite de « piédestal ». Dans cette zone, les informations sur la distribution d'intensité d'émission de la source et sur sa forme sont convoluées avec la réponse impulsionnelle de l'ouverture.
- Une zone dite de « piédestal » recevant la contribution des neutrons diffusés à travers le matériau composant le diaphragme. L'intensité moyenne de cette zone (voir figure 32) correspond au facteur de transmission du diaphragme lorsque les neutrons parcourent l'épaisseur e du matériau constituant le diaphragme.

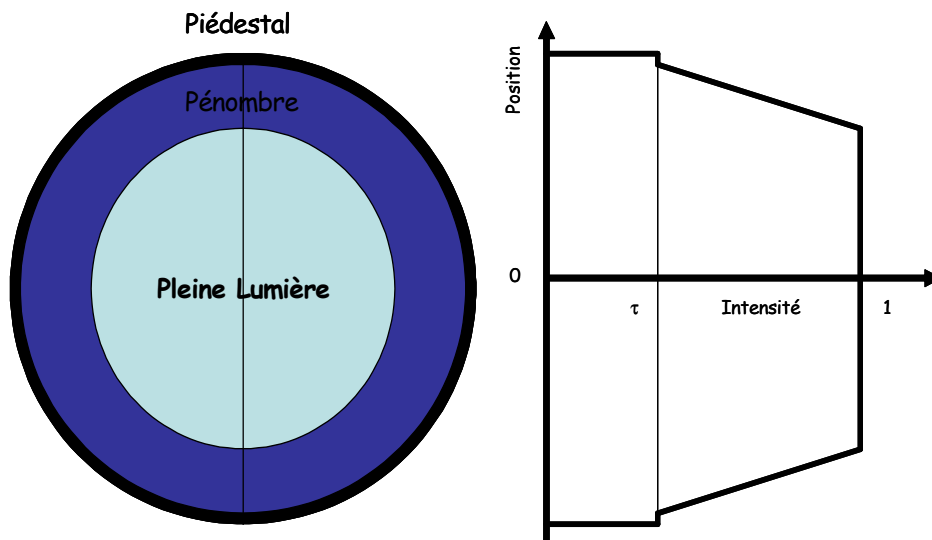


Figure 32: La structure de l'image de pénombre.

Le diamètre D_L de la zone de pleine lumière a pour expression :

$$D_L = 2R_c(G + 1) - GD_s \quad (13)$$

La condition d'existence de la zone de pleine lumière $D_L > 0$ garantit le fait qu'il s'agit d'une image de pénombre et détermine le rayon du diaphragme (Eq 13). La zone de pénombre est un anneau de largeur GD_s .

Si on suppose que la source ne contienne qu'un seul élément de résolution, le profil de l'image de pénombre résultante est représenté figure 33.

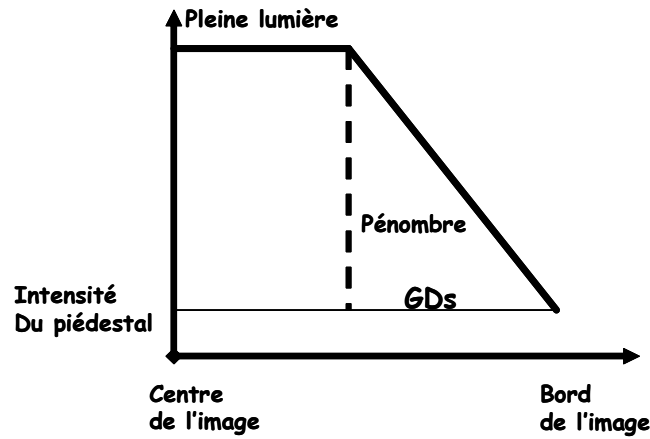


Figure 33 : Profil de l'imagerie de pénombre d'une source réduit à un élément de résolution.

III-2-3- Le rapport signal sur bruit

Si on suppose que la source ne contient qu'un seul élément de résolution, l'information sur la source contenue dans l'image de pénombre obtenue est le résultat de la convolution de la source avec la fonction de transfert de l'ouverture. Si par contre la source contient plusieurs éléments de résolution, l'image obtenue est la superposition de plusieurs images de pénombre, chacune d'elle correspondant à un élément de résolution source particulier. L'information sur la source n'est plus seulement le résultat de la convolution de la source avec la fonction de transfert de l'ouverture mais aussi le résultat du mélange de l'information résultant de la superposition de plusieurs images de pénombre.

Le « bruit » traité dans ce paragraphe est dû uniquement au mélange de l'information au niveau du détecteur. Pour un élément de résolution Δs_i , le bruit est constitué de toutes les informations provenant des Δs_j avec $j \neq i$. Le but de ce paragraphe est de comprendre comment la valeur moyenne du rapport signal sur bruit a été établie et de donner une formule locale du signal mesuré [FCI: 24].

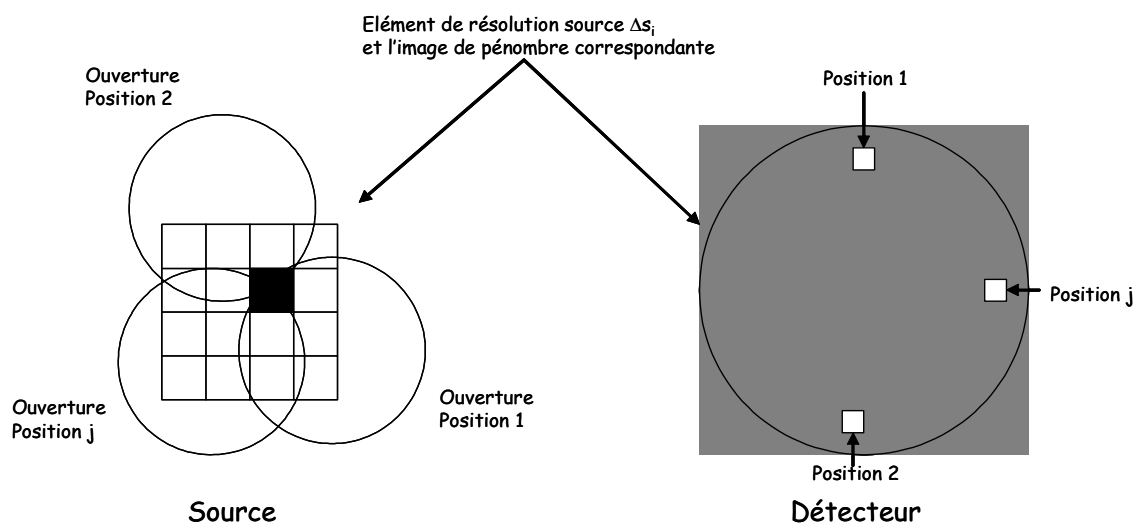


Figure 34 : Codage de l'information.

La Figure 34 montre le plan Objet vu à travers une ouverture circulaire de grand diamètre. La source est quadrillée et l'élément en noir représente un élément de résolution Δs_i de la source. Cet élément de résolution source Δs_i produit une image de

pénombre D_i représentée dans le pan du détecteur à droite. Si dans la pénombre de D_i , on place son œil respectivement dans les positions 1 et 2, on n'aura pas une vue directe sur les mêmes éléments résolvant de la source.

En chacune des positions j situées au milieu de la pénombre de l'image D_i , on reçoit :

- Une partie des neutrons directs provenant de Δs_i .
- La contribution des éléments résolvant autre que Δs_i et dont on a une vue directe.
- La contribution des neutrons diffusés par le matériau constitutif de l'ouverture et provenant des éléments résolvant dont on n'a pas une vue directe.

Si on intègre sur toutes les positions j possibles dans la pénombre de D_i , on peut donc dire qu'un élément résolvant Δs_k avec $k \neq i$, contribue dans la pénombre de D_i une fois sur deux, soit par les neutrons directs, soit par les neutrons diffusés passant à travers le matériau de l'ouverture. En tenant compte du fait que le système de détection fonctionne en mode comptage et en supposant que la statistique de détection suit une loi de Poisson, on peut calculer une valeur moyenne du rapport signal sur bruit SB [FCI: 21, 22, 23, 24].

Si on suppose que $\Delta s_k = \Delta s_g \forall k \in [1, N]$, le nombre moyen d'évènements détectés N_i dans la pénombre de l'image D_i produite par l'élément de résolution Δs_i dans les 4π peut s'écrire :

$$N_i = \varepsilon_d \cdot \frac{1 - \tau}{2} \cdot \frac{R_c \Delta s_i}{2L_0^2} \cdot \frac{N_n}{N_p} \quad (14)$$

où :

- ε_d représente l'efficacité de détection du détecteur.
- $R_c \Delta s_i / 2L_0^2$ représente l'angle solide sous-tendu par la pénombre de D_i .
- $(1 - \tau) / 2$ représente la densité moyenne d'évènements détectés dans la pénombre de D_i . τ est le facteur de transmission du matériau constitutif de l'ouverture.
- N_n / N_p est le nombre moyen de neutrons produits par un élément de résolution source Δs_k . N_n est le nombre de neutrons totale émis par la source.

Dans la pénombre de D_i , N_i est mélangé aux évènements N_{bi} produits par les neutrons provenant des autres éléments de résolution de la source Δs_j avec $j \neq i$ ainsi que les neutrons diffusés par le matériau de l'ouverture et provenant de Δs_i . L'expression de N_{bi} peut s'écrire :

$$N_{bi} = \varepsilon_d \cdot \frac{R_c \Delta s_i}{2L_0^2} \cdot \sum_j [\eta_{ij} + (1 - \eta_{ij}) \cdot \tau] \cdot N_{sj} \quad (15)$$

où $N_{sj} = N_n / N_p$ et η_{ij} représente la probabilité de l'évènement $\{i \neq j \text{ et } \text{pénombre}(\Delta s_i) \cap \text{pénombre}(\Delta s_j) \text{ ne soit pas vide}\}$. $\eta_{ij} = 0$ pour $i = j$ et 0.5 pour $i \neq j$.

En tenant compte que la statistique de détection suit une loi de Poisson, le rapport signal sur bruit SB peut s'écrire :

$$SB = \frac{N_i}{\sqrt{N_i + N_{bi}}} \quad (16)$$

En supposant que tous les éléments de résolution de la source Δs_k émettent le même nombre de neutrons N_n/N_p et ont la même taille Δs_g on aboutit à la valeur moyenne du rapport signal sur bruit.

$$SB = \frac{1-\tau}{2\sqrt{1+\tau}} \cdot \sqrt{\varepsilon_d N_n} \cdot \frac{\sqrt{R_c \Delta s_g}}{L_0 N_p} \quad (17)$$

III-2-4- La résolution spatiale. Les paramètres limitatifs

Si on omet la dégradation causée par les effets instrumentaux du dispositif expérimental, les facteurs conditionnant la précision de la mesure dépendent des caractéristiques de l'ouverture utilisée et de la quantité d'information collectée au niveau du détecteur.

III-2-4-1- Les caractéristiques de l'ouverture. Impact sur la résolution spatiale

Pour obtenir une résolution spatiale acceptable sur des sources de taille micrométrique, les caractéristiques géométriques de l'ouverture doivent être le résultat d'un compromis entre la distance source-optique, la taille du champ d'observation, et la nature et l'épaisseur du matériau constituant l'ouverture. Le type d'ouverture initialement choisie était une ouverture biconique symétrique en tungstène de 5 cm d'épaisseur parce qu'elle fournissait une bonne isoplanaticité dans le champ d'observation (Figure 35) [FCI: 22,25].

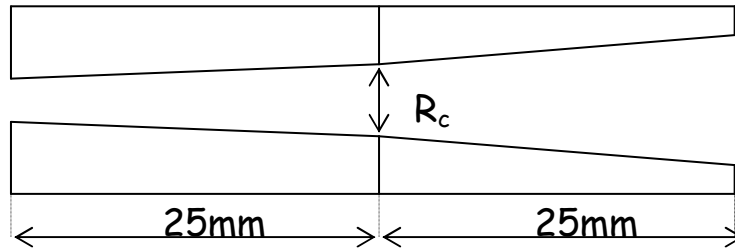


Figure 35 : Ouverture biconique symétrique.

En outre le tungstène s'avère être un matériau très efficace pour atténuer les neutrons dont le libre parcours moyen est de 3cm. Le coefficient de transmission de l'ouverture est donné par la formule :

$$\tau = e^{-\frac{e}{l}} \quad (18)$$

où e représente l'épaisseur de l'ouverture et l le libre parcours moyen des neutrons. Pour une épaisseur de 5cm, le coefficient de transmission est de 0.19.

Si on définit la résolution spatiale comme étant la largeur à mi-hauteur de la réponse de l'ouverture à une source ponctuelle, la figure 36 représente la courbe expérimentale de variation de la résolution spatiale en fonction de la position de la source ponctuelle dans le champ d'observation [FCI : 25].

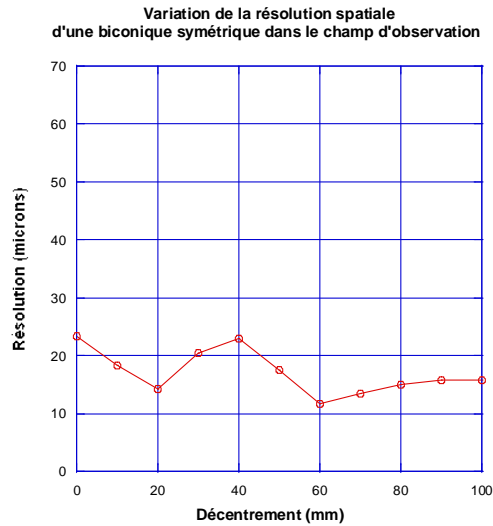


Figure 36 : Courbe expérimentale de la variation de la résolution spatiale d'une ouverture biconique symétrique en fonction du décentrement par rapport au centre du champ d'observation.

- La dégradation de la résolution spatiale due aux neutrons diffusés par le matériau de l'ouverture

Les neutrons passant à travers le matériau constituant l'ouverture élargissent la réponse impulsionnelle de cette dernière et constituent un facteur de dégradation de la résolution spatiale. Si on considère une source ponctuelle située au centre du champ d'observation, alors l'expression de l'élargissement de la réponse impulsionnelle peut s'écrire [FCI: 26, 27, 28]:

$$\Delta_{ap} = \frac{D_0 e}{2(2L_0 - e)} \quad (19)$$

Δ_{ap} dépend de la taille du champ d'observation D_0 et du rapport e/L_0 . Pour minimiser Δ_{ap} , le rapport e/L_0 doit être aussi petit que possible. Le but des deux paragraphes suivants est de définir la géométrie d'une ouverture multiconique telle que Δ_{ap} soit le plus petit possible.

- Modélisation de la dégradation de la résolution spatiale due aux neutrons diffusés par le matériau de l'ouverture

Les neutrons passant à travers le matériau constituant l'ouverture élargissent sa réponse impulsionnelle et sont donc à l'origine d'un facteur de dégradation de la résolution spatiale. La dégradation de la résolution spatiale occasionnée par ces neutrons dépend de l'intensité du signal parasite créé. L'intensité de ce signal n'est pas constante sur l'image expérimentale et dépend à la fois du trajet maximum d_{max} parcouru par un neutron source dans le matériau de l'ouverture dépendant de la position de son point d'émission S dans la source. Le problème est donc de réaliser une ouverture la plus absorbante possible et telle que le coefficient d'absorption dépende le moins possible de la position du point d'émission S dans la source. En d'autres termes, la géométrie de l'ouverture doit être telle que le trajet maximum d_{max} soit le plus grand possible et dépende le moins possible de la position du point d'émission dans la source.

The diagram illustrates the geometry of a detector pixel and the resulting image blur. It shows a source S at distance L_0 from a detector plane. A pixel of width e is shown, with points G , H , E , and I marked. Angles α , β , and θ are indicated. The detector plane is labeled "Plan détecteur" and the source plane is labeled "Plan Objet".

Dans le cas d'une ouverture biconique symétrique, pour se rapprocher des conditions d'isoplanaticité, l'angle des deux cônes $\alpha = GAE$ doit être le plus proche possible de π . D'après la figure 37, le trajet maximum d_{\max} , parcouru par un rayon issu d'un point S du champ d'observation D_0 , et correspondant à un angle $\theta = HSA$ représentant la contribution de l'émission neutronique de S sur un pixel du détecteur, est donné par $d_{\max} = GH$. Comme α est proche de π ($\pi - \alpha$ et D_0/L_0 petits), θ et $\beta = GAS$ sont petits, et en utilisant les formules dans le triangle quelconque, l'expression de d_{\max} devient :

où Z_i représente la distance SA et e l'épaisseur de l'ouverture. La figure 38 illustre la relation existant entre θ et α .

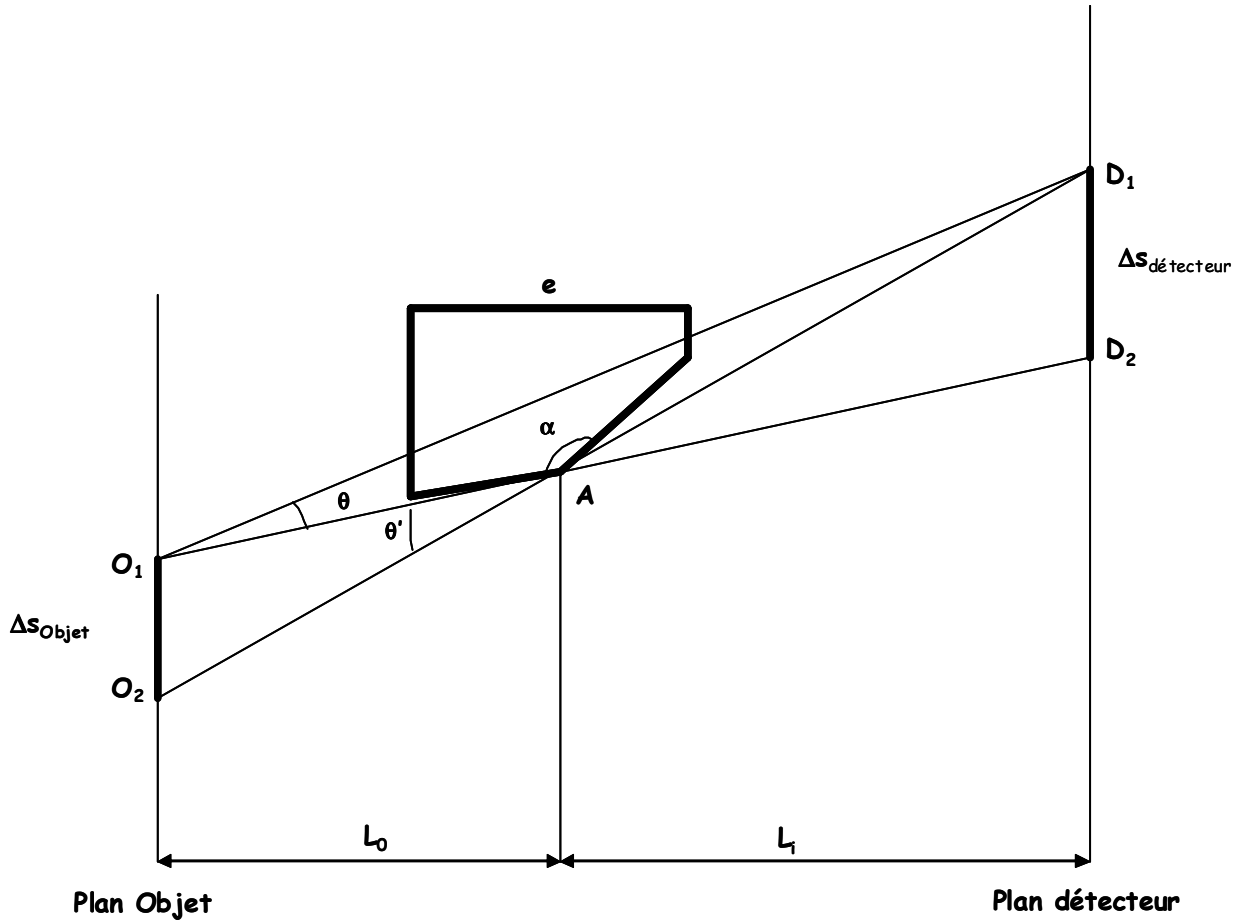


Figure 38 : relation entre θ , α , D_0 et Δs_{objet} .

En introduisant l'angle $\theta' = \angle O_1AO_2$ et en tenant compte de la figure 37, on peut écrire la relation 21 dans laquelle $\theta \approx \theta'$ compte tenu de la grande distance source détecteur.

$$\frac{\pi - \alpha}{\theta} = \frac{\pi - \alpha}{\theta'} = \frac{D_0}{\Delta s_{\text{objet}}} \quad (21)$$

En tenant compte des équations précédentes, et en faisant varier β de 0 à $(\pi - \alpha)$ (S parcourt D_0), on peut établir les expressions de $\bar{\lambda}$, la valeur moyenne de λ et de sa variation.

$$\bar{d}_{\text{max}} = 2 \min \left\{ \frac{L_0}{D_0 / 2\Delta s_{\text{objet}}}, \frac{e}{2} \right\} \quad (22)$$

$$\delta(d_{\text{max}}) \approx \frac{e}{4} - \frac{L_0}{2} \frac{1}{D_0 / \Delta s_{\text{objet}}}$$

Pour minimiser le facteur de dégradation sans affecter la résolution dans le plan objet, il suffit de diminuer la taille du champ d'observation D_0 de telle sorte que \bar{d}_{max} soit égale à e . Ensuite, pour éviter une trop grande variation de la résolution spatiale dans le champ d'observation, il convient de minimiser la variation de

d_{\max} , c'est-à-dire minimiser e , ce qui est incompatible avec la maximisation de \bar{d}_{\max} . En conclusion, l'observation d'une source de taille D_s avec un contraste suffisant nécessite à la fois une taille de champ D_0 et une épaisseur d'ouverture suffisantes, ce qui va conditionner une dégradation (c'est-à-dire un élargissement de la réponse impulsionnelle) qui ne sera pas constante sur le champ d'observation et qui compromettra le caractère isoplanatique de l'ouverture.

- Amélioration apportée par une ouverture multi conique

Comme on l'a vu dans le paragraphe précédent, pour une ouverture biconique symétrique, minimiser l'élargissement de la réponse impulsionnelle (équation 19) et sa variation sur le champ d'observation tout en conservant un contraste acceptable nécessite d'avoir à la fois un L_0 suffisamment grand et une valeur de l'angle α aussi proche de π que possible. D'autre part, l'obtention d'une résolution spatiale acceptable nécessite un L_0 petit. Le but de ce paragraphe est d'introduire et d'étudier une forme d'ouverture multi conique de façon à rendre compatible l'obtention d'une résolution géométrique acceptable avec la minimisation de la dégradation due aux neutrons diffusés par le matériau de l'ouverture et l'invariance de cette dégradation sur le champ d'observation. Une telle ouverture est composée de plusieurs cônes, chacun analysant un champ partiel d_0 dans le champ total D_0 (Figure 39).

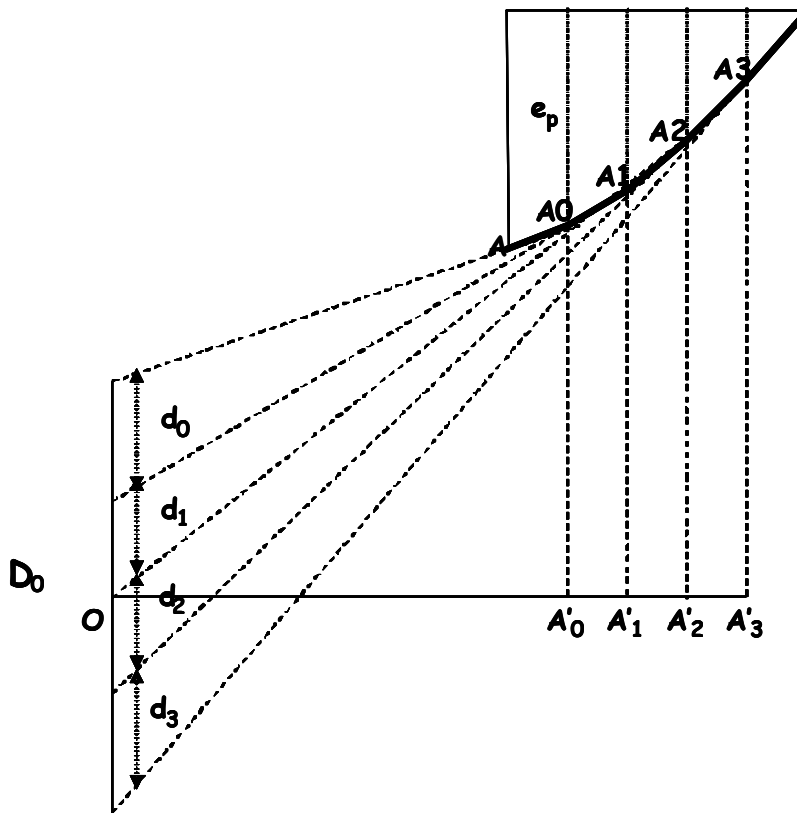


Figure 39 : Forme multi conique de l'ouverture.

Sur la figure 39, e_p représente l'épaisseur d'un cône unitaire et d_i le champ d'observation partiel qui lui est associé. Dans cette configuration, les valeurs de la résolution géométrique Δs_{gi} (équation 11) et de l'élargissement de la réponse impulsionnelle Δ_{api} (équation 19) varient sur le champ d'observation D_0 , suivant que l'on se trouve dans les champs partiels d_0 ($L_{00} = OA'_0$), d_1 ($L_{01} = OA'_1$), d_2 ($L_{02} = OA'_2$), d_3 ($L_{03} = OA'_3$).

$$\Delta s_{gi} = \frac{2\Delta d L_{0i}}{d - L_{0i}} \quad (23)$$

$$\Delta_{api} = \frac{d_i \cdot 2e_p}{2(2L_{0i} - 2e_p)}$$

d représente la distance source détecteur et Δd est la taille d'un pixel détecteur. Quand L_{0i} augmente de L_{00} à L_{03} , Δs_{gi} augmente et Δ_{api} diminue. Pour optimiser les paramètres géométriques de l'ouverture multi conique, il faut déterminer e_p et la taille de chacun des champs partiels d_i de telle sorte que sur le champ total D_0 , on ait :

$$\Delta_{ap} + \Delta s_g = C \quad (24)$$

C est une constante qui représente la résolution spatiale sur D_0 en prenant en compte la dégradation des neutrons passant à travers le matériau de l'ouverture. Sur chaque champ partiel d_i , on a :

$$\frac{\Delta_{api}}{\Delta s_{gi}} = K_i > 0 \quad (25)$$

équation dans laquelle, on impose que sur chaque d_i , K_i appartienne à l'intervalle $[0,1]$. En généralisant l'équation 22 sur D_0 et en tenant compte de l'équation 21, il vient:

$$(1 + K)\Delta s_g = C \quad 0 < K < 1$$

$$\Delta s_g = \frac{2\Delta d L_0}{d - L_0} \quad (26)$$

Δd représente la taille d'un pixel détecteur, L_0 est la distance cible ouverture et d est la base de vol des neutrons (distance source détecteur). L'équation 26 est analysée dans le graphe ci-dessous dans lequel on a imposé $C=50\mu m$, $e=50mm$ (épaisseur totale de l'ouverture), $\Delta d=1.5mm$.

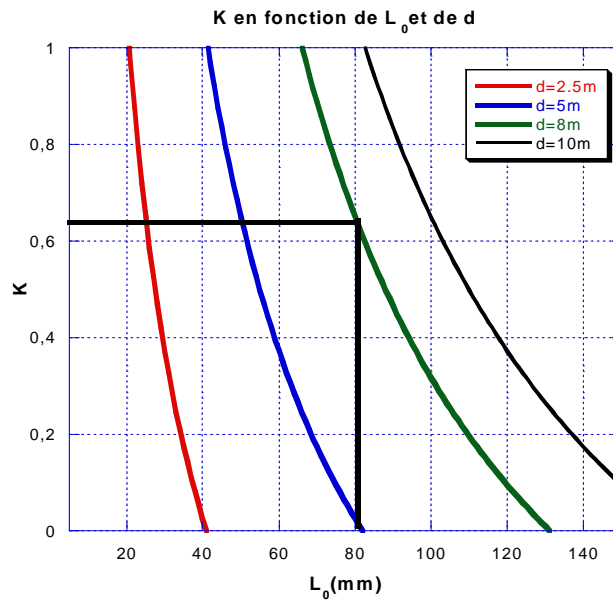


Figure 40 : Variation de K en fonction de L_0 et d .

On remarque que pour une base de vol de 8m et L_0 variant dans l'intervalle $[80, 130]$ mm, K varie dans l'intervalle $[0.009, 0.65]$.

En se ramenant dans chaque champ partiel d_i , on a :

$$\Delta_{api} = \frac{2e_p d_i}{2(2L_{0i} - 2e_p)} = C - \Delta s_{gi} \quad (27)$$

$$\Delta s_{gi} = \frac{2\Delta d L_{0i}}{(d - L_{0i})}$$

e_p représente l'épaisseur d'un cône unitaire et L_{0i} est la distance OA'_i .

L'équation 27 est analysée dans le graphe en figure 41 avec les mêmes données pour C , e et Δd :

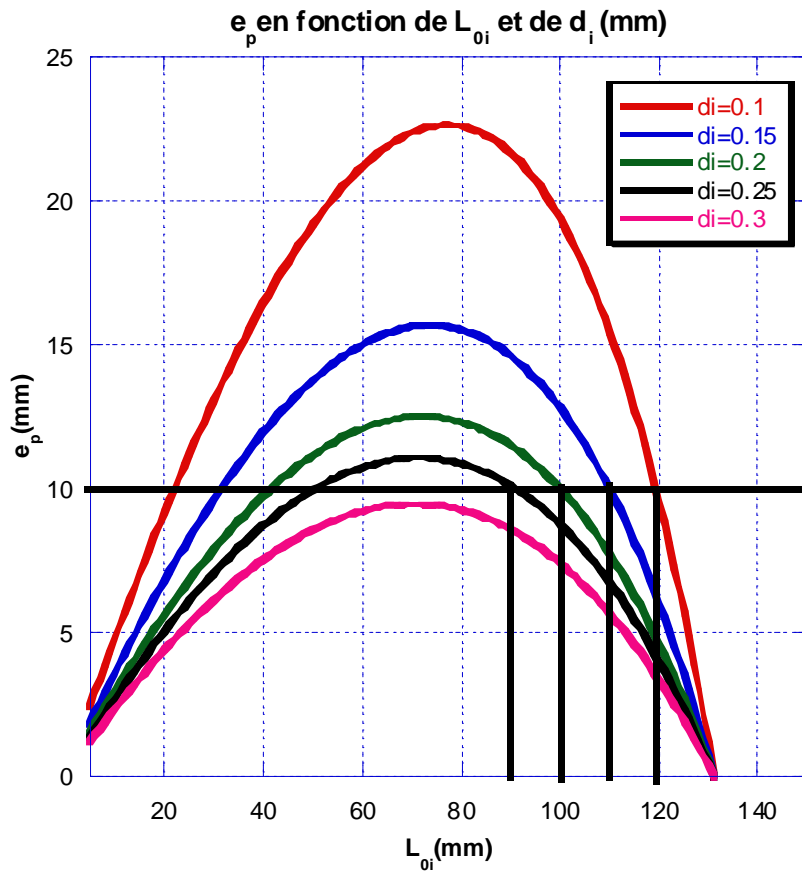


Figure 41 : Ouverture multi conique :
détermination de e_p et de d_i en fonction de L_0 .

En tenant compte de la figure 41, dans laquelle d_i est exprimé en mm, on note que pour un cône élémentaire d'épaisseur $e_p = 10$ mm et pour L_0 variant de 80 à 130 mm, on a (voir Figure 39) :

$d_0 = 0.25\text{mm}$	$L_{00} = 90\text{mm}$
$d_1 = 0.20\text{mm}$	$L_{01} = 100\text{mm}$
$d_2 = 0.15\text{mm}$	$L_{02} = 110\text{mm}$
$d_3 = 0.10\text{mm}$	$L_{03} = 120\text{mm}$

Ainsi l'ouverture multi conique est composée de 4 cônes d'épaisseur de 10mm chacun, soit une épaisseur totale de 50mm, la taille du champ d'observation D_0 est 0.7mm et la résolution spatiale fournie par l'ouverture sera d'environ 50 μm sur l'ensemble de D_0 .

III-2-4-2- La quantité d'information au niveau du détecteur

La quantité d'information est définie comme étant le nombre de niveaux de gris J que l'on peut distinguer dans un élément de résolution du détecteur soit $2.\Delta d$ (équation 11) [FCI: 26, 27, 28]. Si on suppose que la statistique de détection suit une loi de Poisson et si on considère que deux niveaux de gris ne peuvent se distinguer que s'ils sont séparés par au moins trois écarts-types, alors l'expression de J peut s'écrire :

$$J - 1 = \frac{n_b}{3\sqrt{n_b}} \quad (28)$$

avec

$$n_b = N_n \varepsilon_d \frac{\Delta s_g R_c}{8L_0^2} \quad (29)$$

Expression dans laquelle $J-1$ représente le nombre de niveaux de gris moyen contenus dans un élément de résolution du détecteur (le premier niveau de gris correspondant au bruit de fond). n_b est le nombre d'évènements détectés dans un anneau d'épaisseur $2.\Delta d$ situé dans la zone de pénombre, N_n est le nombre de neutrons émis par la source dans les 4π , ε_d l'efficacité de détection, R_c le rayon de l'ouverture.

A partir de la connaissance de $J-1$ et de sa position par rapport à $\sqrt{N_p}$, on peut estimer la résolution spatiale $\Delta s(J)$ qu'il est possible d'obtenir.

Si $(J-1) < \sqrt{N_p}$, seul $(J-1)$ éléments résolvants sont détectés et la taille Δs de l'élément résolvant est multiplié par un facteur $\sqrt{N_p}/(J-1)$:

$$\Delta s = \Delta s_g \frac{\sqrt{N_p}}{(J-1)} \quad (30)$$

Chaque élément résolvant Δs est décrit par un seul niveau de gris et entraîne une erreur de $\Delta s/2$ (Figure 42).

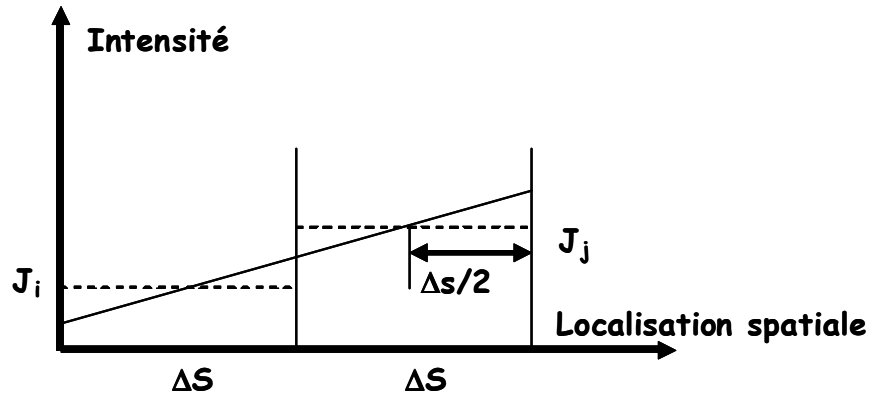


Figure 42 : Erreur sur Δs dans le cas $(J-1) < \sqrt{N_p}$.

Dans le cas où $(J-1) < \sqrt{N_p}$, l'expression de $\Delta s(J)$ peut donc s'écrire :

$$\Delta s(J) = \frac{3}{2} \cdot \Delta s = \frac{3}{2} \Delta s_g \frac{\sqrt{N_p}}{(J-1)} = \frac{3D_s}{2(J-1)} \quad (31)$$

Si $(J-1) \geq \sqrt{N_p}$, la taille de l'élément résolvant est Δs_g et chacun d'eux comprend plusieurs niveaux de gris $n(J-1) = (J-1)/\sqrt{N_p}$. La figure 43 illustre l'erreur commise sur Δs_g dans le cas où $n(J-1)=2$.

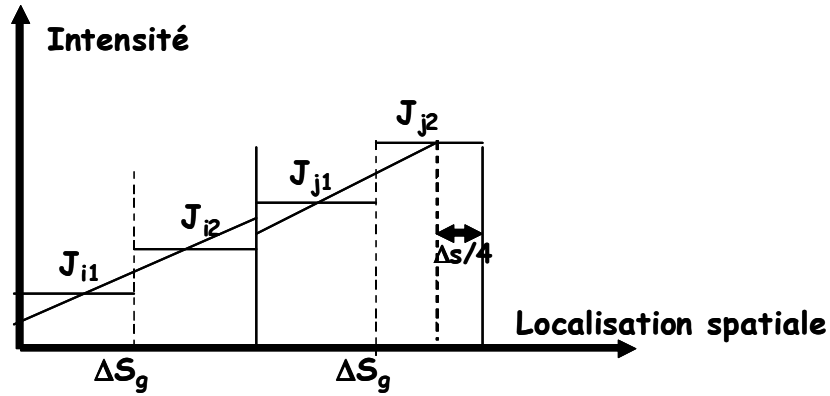


Figure 43 : Erreur sur Δs_g pour $n(J-1)=2$.

L'expression correspondante de $\Delta s(J)$ s'écrit :

$$\Delta s(J) = \Delta s_g \left(1 + \frac{\sqrt{N_p}}{2(J-1)}\right) \quad (32)$$

En tenant compte des équations 31 et 32, l'expression de $\Delta s(J)$ de la résolution spatiale associée s'écrit donc:

$$\begin{aligned} \text{Si } (J-1) < \sqrt{N_p} \quad & \Delta s(J) = \frac{3D_s}{2(J-1)} \\ \text{sinon} \quad & \Delta s(J) = \Delta s_g \left(1 + \frac{\sqrt{N_p}}{2(J-1)}\right) \end{aligned} \quad (33)$$

$\Delta s(J)$ est la résolution spatiale optimum que permet d'atteindre la quantité d'information.

III-2-4-3- Le processus de détection

Si s est le nombre moyen d'évènements détectés par élément de résolution du détecteur et que le processus de détection suit une statistique de Poisson, alors d'après le théorème central limite, si $\sqrt{s} > 5$, le nombre moyen d'évènements enregistrés peut s'écrire [FCI: 28, 29] :

$$r = s + k\sqrt{s}N(0,1) \quad (34)$$

$N(0,1)$ est une loi normale centrée de moyenne égale à zéro et de variance égale à 1, et où $k=1$ si seulement le processus de détection est pris en compte.

Si on prend en compte le bruit dû à la conversion neutron photon, k devient supérieur à 1. Si le bruit dû à la conversion neutron photon est supposé suivre une loi gaussienne de variance σ_b , alors l'expression de r devient :

$$r = s + \sqrt{s + \sigma_b^2} N(0,1) = s + k\sqrt{s}N(0,1) \text{ avec } k > 1 \quad (35)$$

Les deux équations précédentes montrent clairement que le signal enregistré est dégradé par du bruit multiplicatif et dépendant du signal.

III-2-5- Détermination de la résolution spatiale effective fournie par le dispositif expérimental

La résolution spatiale effective fournie par le dispositif expérimental, Δs_{exp} est supérieure à la résolution géométrique du système (résolution théorique) Δs_g qui est la résolution ultime que l'on peut espérer obtenir. Comme on l'a vu précédemment, cet écart est essentiellement dû à deux facteurs. Le premier de ces facteurs est le caractère épais de l'ouverture qui engendre un élargissement de sa réponse impulsionnelle. Le deuxième de ces facteurs dépend de la quantité d'information recueillie au niveau du détecteur. Les dégradations associées à ces deux facteurs ont été étudiées précédemment en exprimant Δ_{ap} et $\Delta s(J)$.

La quantification de ces deux variables dépend de deux types de paramètres :

- Les paramètres géométriques.
 - a. La taille du champ d'observation D_0 .
 - b. L'épaisseur de l'ouverture e .
 - c. La taille du pixel détecteur Δd ainsi que son efficacité de détection ε_d .
 - d. La distance cible ouverture L_0 .
 - e. La base de vol (distance cible détecteur) d .
 - f. Le diamètre de la surface de détection D_{detect} .
 - g. Le rayon de l'ouverture R_c .
- Les paramètres liés à l'installation sur laquelle fonctionne le diagnostic d'imagerie qui sont essentiellement le flux neutronique N_n et la taille moyenne de la zone de fusion créée D_s .

L'expression de Δs_{exp} peut s'écrire :

$$\Delta s_{\text{exp}} = \Delta s_g + \text{Max}\{\Delta_{ap}, \Delta s(J) - \Delta s_g\} \quad (36)$$

La dégradation due à l'épaisseur de l'ouverture ne dépend que de paramètres géométriques, alors que la dégradation de la résolution spatiale relative à la quantité d'information dépend aussi du flux neutronique et de la taille de source.

Afin d'utiliser au mieux les performances du système de détection, le dimensionnement du dispositif expérimental sera tel que la dégradation due à l'ouverture soit toujours inférieure à la dégradation relative à la quantité d'information:

$$\Delta_{ap} < \Delta s(J) - \Delta s_g \quad (37)$$

Et donc que $\Delta s_{\text{exp}} = \Delta s(J)$.

III-2-6- Le système de détection enregistrement

III-2-6-1- Le système de détection existant. Evaluation de la sensibilité moyenne. La limite expérimentale

Le système de détection et d'enregistrement [FCI: 22] est composé d'un convertisseur neutron photon et d'un dispositif d'enregistrement. Le convertisseur est un bloc circulaire de 150mm de diamètre composé de 8000 bâtonnets scintillants en NE102 de 100mm de long et de 1.5mm x 1.5mm de section, ce qui est la dimension minimum pour éviter le phénomène de diaphonie entre bâtonnets. L'efficacité de détection (rapport du nombre de neutrons détectés sur le nombre de neutrons incidents) du convertisseur est $\varepsilon_d = 0.28$ pour les neutrons de 14MeV. Le nombre de photons n_γ de 2.58eV créés par l'interaction d'un neutron dans un bâtonnet scintillant est déterminé par la quantité d'énergie E_i cédée par la recombinaison du proton de recul produit ($n_\gamma = E_i / e_\gamma (= 2.58\text{eV}) = 3.87 \cdot 10^4$). Les photons en sortie du détecteur sont émis dans un angle solide Ω de 70 degrés et l'efficacité de collection ε_c est de 4.4%. A cause du faible rendement du détecteur, un intensificateur à double galette de microcanaux a été utilisé et le couplage entre la face arrière du détecteur et la fenêtre d'entrée de l'intensificateur a été réalisée au moyen d'une lentille. Le grandissement M est de 1/15 et assure une efficacité de collection de $3.27 \cdot 10^{-3}$ correspondant à l'angle solide ω/Ω où ω représente l'angle solide de collection de la lentille. L'intensificateur est obturé de manière à minimiser le bruit de fond causé par les rayons X et les neutrons diffusés. La transmission de la lentille et de la fenêtre d'entrée de l'intensificateur a été estimée de manière expérimentale à $T_r = 0.56$ et le rendement quantique de la photocathode de l'intensificateur q_k est de 0.1.

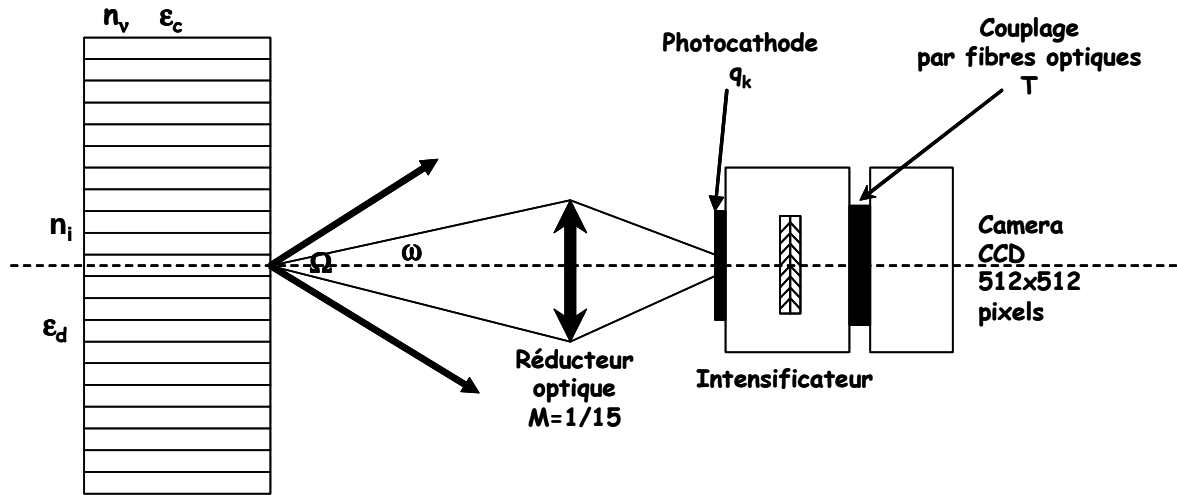


Figure 44 : Ancienne version de la caméra neutronique.

La sensibilité moyenne de la caméra a été estimée en déterminant le nombre de photoélectrons N_e créés à la photocathode de l'intensificateur pour un neutron détecté.

$$N_e = n_v \varepsilon_c q_k T_r (\omega / \Omega) = 0.374 \quad (38)$$

La limite expérimentale du système est définie comme étant le nombre minimum de neutrons N_{\min} émis par la source correspondant à 1 photoélectron par pixel CCD.

$$N_{\min} \frac{\pi(150)^2}{4d^2} \frac{1}{8000} \varepsilon_d \frac{N_e}{25} = 1 \quad (39)$$

En tenant compte du fait que le détecteur a pour diamètre 150mm, qu'il est composé de 8000 bâtonnets et qu'un bâtonnet correspond à 25 pixels CCD. d représente la distance entre la source et le détecteur et ε_d est l'efficacité de détection.

III-2-6-2- Optimisation du système de détection enregistrement

Dans sa nouvelle version, la camera neutronique [FCI: 23], on a optimisé la sensibilité moyenne N_e . L'efficacité de collection en sortie du détecteur a été améliorée grâce à un réflecteur en Al-CH placé sur la face avant du détecteur. Le couplage entre la face arrière du détecteur et l'intensificateur a été réalisé au moyen d'un réducteur à fibres optiques dont le facteur de transmission a été évalué expérimentalement à $T_r=0.09$. La fenêtre d'entrée de l'intensificateur T_f est de 0.6. Dans ce contexte la sensibilité est donnée par :

$$N_e = n_v \varepsilon_c q_k T_r T_f \approx 11 \quad (40)$$

Le gain de sensibilité entre les deux versions est d'environ un facteur 30.

Compte tenu des réducteurs à fibres optiques utilisés pour les couplages optiques (détecteur intensificateur) et (intensificateur CCD), un bâtonnet scintillant

détecteur correspond à 36 pixels CCD. La limite expérimentale du nouveau système $N_{\min new}$ par rapport à l'ancien a été divisée par un facteur d'environ 20.

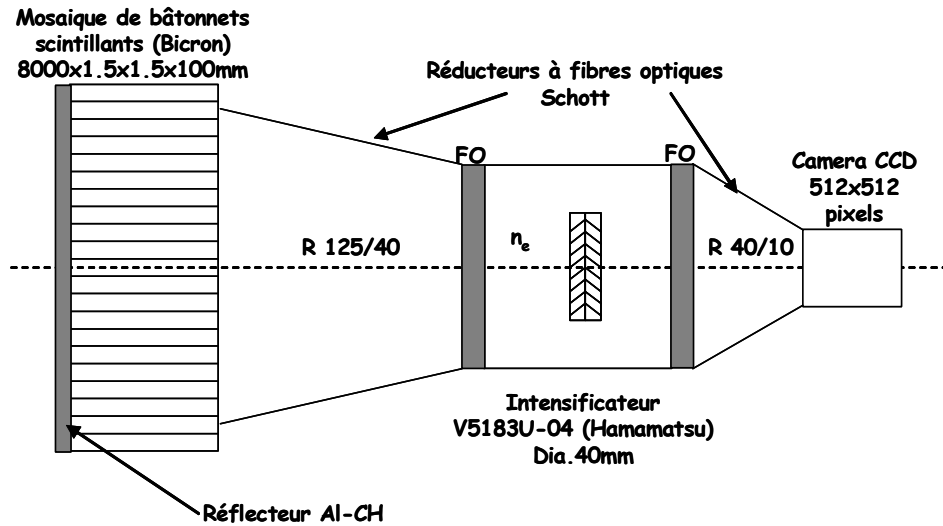


Figure 45 : Nouvelle version de la camera neutronique.

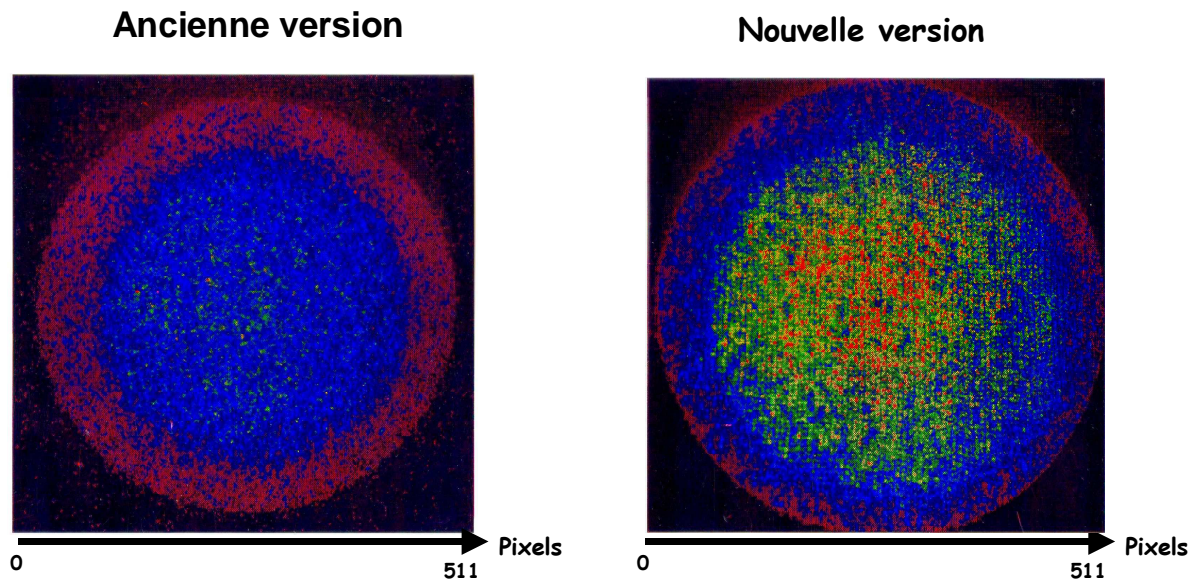


Figure 46 : Sensibilité de la camera neutronique ancienne et nouvelle version avec la même échelle de couleurs.

III-2-7- Dimensionnement du dispositif expérimental. Application aux installations OMEGA (LLE-USA) et LMJ (CEA-France)

A partir des expressions de Δ_{ap} et $\Delta s(J)$ (équations 19,33), on détermine les paramètres géométriques du dispositif expérimental en fonction de l'installation, de telle manière que la condition de l'équation 37 soit respectée et que l'écart entre Δs_{exp} et Δs_g soit le plus petit possible.

Les caractéristiques de chaque installation imposent de fixer une base de vol maximum d_{max} , un champ d'observation D_0 , ainsi qu'une distance cible ouverture minimum $L_{0,min}$. La base de vol maximale d_{max} est limitée par la taille du bâtiment, D_0

par les techniques d'alignement cible-ouverture-détecteur et $L_{0,min}$ par la tenue au flux de l'ouverture.

En outre D_0 , d et $L_{0,min}$ doivent être choisis de telle sorte que la taille de l'image dans le plan de détection soit inférieure ou égale à la taille du détecteur.

Il conviendra ensuite de fixer sur chaque installation les valeurs des paramètres L_0 , Δd et R_c satisfaisant la condition de l'équation 31 et de telle sorte que $\Delta s(J) - \Delta_{ap}$ soit minimum. Sur chacune des installations considérées on fixera l'épaisseur de l'ouverture à 50mm.

III-2-7-1- Installation OMEGA (LLE-USA)

Sur l'installation OMEGA, le flux neutronique varie entre 10^{11} et 10^{14} neutrons dans les 4π . Les tailles de source D_s considérées sont respectivement 0.1mm et 0.05mm. La base de vol d est fixée à 8m, le champ d'observation D_0 à 0.25mm et la valeur minimum de L_0 à 50mm.

- **Détermination du seuil minimum de neutrons nécessaire pour que la condition $J-1 \geq \sqrt{N_p}$ soit vérifiée**

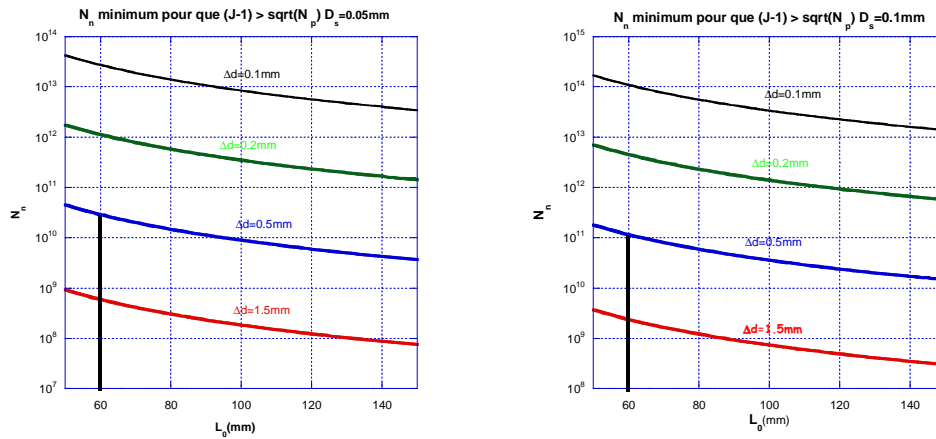


Figure 47 : Seuil minimum de neutrons pour avoir $(J-1) \geq \sqrt{N_p}$.

La figure ci-dessus montre que pour que le nombre de niveaux de gris ($J-1$) soit supérieur ou égal à $\sqrt{N_p}$, avec un flux neutronique compris entre 10^{11} et 10^{14} neutrons dans les 4π , la valeur minimum de L_0 doit être de 60mm et que la taille des pixels du détecteur peut être soit 1.5mm ou 0.5mm.

- **Dimensionnement du dispositif expérimental**

L'étape de dimensionnement consiste à déterminer $L_0 \geq 60$ mm et choisir 1.5mm ou 0.5mm comme taille de pixel détecteur pour que l'on ait :

$$MIN_{D_s, N_n} \{ \Delta s(J) - \Delta_{ap} \} = MIN_{D_s, N_n} \left\{ \Delta s_g + \frac{D_s}{2(J-1)} - \Delta_{ap} \right\} > 0 \quad (41)$$

Pour atteindre le minimum de l'expression $\Delta s(J) - \Delta_{ap}$, on prendra $N_n = 10^{14}$ neutrons dans les 4π et comme taille de source, $D_s = 0.05$ mm.

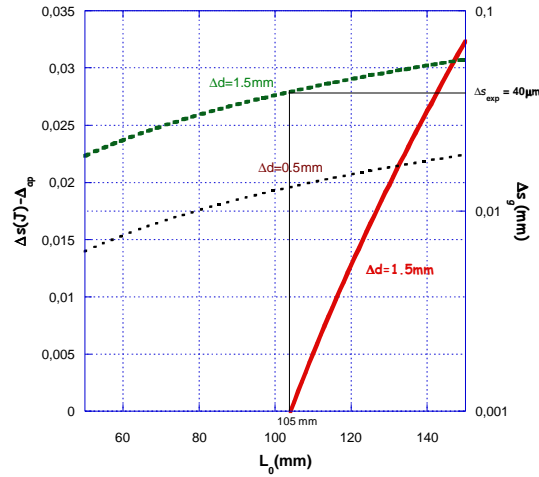


Figure 48 : Dimensionnement du dispositif expérimental sur OMEGA.

La figure 48 montre que la condition $(J-1) \geq \sqrt{N_p}$ est vérifiée pour $\Delta d=1.5\text{mm}$ et que la résolution spatiale optimum que l'on peut espérer atteindre sur l'installation OMEGA avec une ouverture de type biconique symétrique d'épaisseur 50mm est de $40\mu\text{m}$.

III-2-7-2- Installation LMJ (CEA-France)

Sur l'installation LMJ, le flux neutronique varie entre 10^{15} et 10^{19} neutrons dans les 4π . La base de vol maximum est fixée à 40m, le champ d'observation D_0 à 1mm et la valeur minimum de L_0 à 300mm.

Afin que la taille de l'image ne dépasse pas la taille du détecteur soit 125mm, la base de vol d a été fixée à 37m.

- Détermination du seuil minimum de neutrons nécessaire pour que la condition $J-1 \geq \sqrt{N_p}$ soit vérifiée

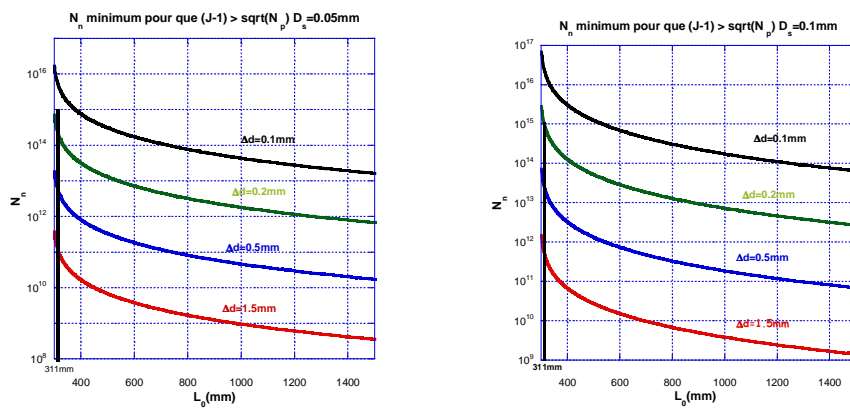


Figure 49 : Seuil minimum de neutrons pour avoir $(J-1) \geq \sqrt{N_p}$.

La figure 49 montre que pour que le nombre de niveaux de gris $(J-1)$ soit supérieur ou égal à $\sqrt{N_p}$, avec un flux neutronique compris entre 10^{15} et 10^{19} neutrons dans les 4π , la valeur minimum de L_0 doit être de 311mm et que la taille des pixels du détecteur peut être 1.5mm, 0.5mm ou 0.2mm.

- Dimensionnement du dispositif expérimental

Afin de vérifier la condition $(J - 1) \geq \sqrt{N_p}$, N_n a été fixé à 10^{19} neutrons dans les 4π et D_s à 0.05mm.

La figure 50 représente les courbes $\Delta s_{exp} = \Delta s(J) = f(\Delta d, L_0)$ (courbes en pointillé) et $\Delta s(J) - \Delta_{ap} = g(\Delta d, L_0)$ (courbes pleines) pour respectivement des tailles de bâtonnets Δd de 1.5mm, 0.5mm et 0.2mm.

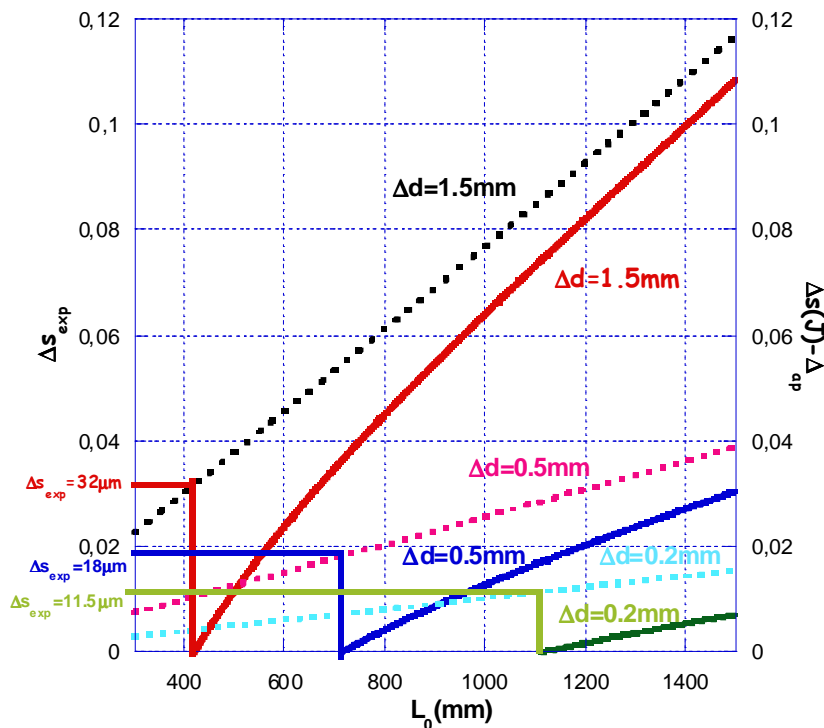


Figure 50 : Dimensionnement du dispositif expérimental sur le LMJ.

Pour un Δd fixé, la valeur minimum de L_0 est déterminée à l'aide de la courbe pleine correspondante, puis on détermine Δs_{exp} à l'aide de la courbe en pointillé correspondante.

Ainsi, selon que l'on prend un pixel détecteur de taille 1.5mm, de 0.5mm ou de 0.2mm, les résolutions spatiales que l'on peut espérer atteindre sur l'installation LMJ avec une ouverture de type biconique symétrique d'épaisseur 50mm sont respectivement de 32μm, 18μm et de 11.5μm.

III-3- L'imagerie optique in vivo dans le cadre de l'imagerie moléculaire

III-3-1- La propagation des photons dans les tissus vivants

III-3-1-1-Propriétés optiques des tissus

La propagation des photons dans les tissus vivants est essentiellement conditionnée par les processus de diffusion et d'absorption. La diffusion a lieu lorsqu'il y a une variation locale de l'indice de réfraction. Le caractère diffusant d'un milieu est mesuré par son coefficient de diffusion μ_s . Un autre paramètre important est l'anisotropie qui renseigne sur la direction de la diffusion. En effet, à chaque diffusion, les photons peuvent s'écarter de la direction de propagation initiale. Pour caractériser ce phénomène, on introduit la fonction de phase et le coefficient d'anisotropie g . La fonction de phase de diffusion est la répartition angulaire statistique de l'intensité lumineuse diffusée. Pour les milieux diffusants et homogènes du point de vue macroscopique, cette fonction de phase devient indépendante de l'angle azimutal et il y a une symétrie cylindrique autour de la direction de la lumière incidente. Le coefficient d'anisotropie est défini par la valeur moyenne du cosinus de l'angle de diffusion.

$$g = \text{Moy}(\cos\theta) \quad (42)$$

Le coefficient de diffusion réduit μ'_s considéré comme le coefficient de diffusion isotrope équivalent est défini par :

$$\mu'_s = (1-g) \mu_s \quad (43)$$

L'inverse du coefficient de diffusion réduit ($1/\mu'_s$) est le libre parcours moyen des photons. C'est le parcours moyen d'un photon entre deux événements consécutifs de diffusion isotrope. Un autre caractère des milieux biologiques traversés par les photons est le caractère absorbant caractérisé par le coefficient d'absorption μ_a .

III-3-1-2-L'équation de la diffusion

L'approche la plus fondamentale pour modéliser la propagation de la lumière est d'utiliser les équations de Maxwell. La complexité de mise en œuvre de ce type d'approche dans le cas de tissus biologiques justifie la simplification couramment utilisée consistant à faire abstraction des phénomènes diffractifs et interférométriques liés à la nature ondulatoire de la lumière. Cette approche est basée sur l'équation du transfert radiatif qui ne prend en compte que les phénomènes de diffusion et d'absorption que nous avons introduits précédemment[IM : 19]. L'équation du transfert radiatif s'obtient à partir d'un bilan énergétique à l'intérieur d'un volume élémentaire dV .

Considérons un élément de surface dS centré en un point M caractérisé par sa position \vec{r} , et un angle solide $d\Omega$ dont l'axe défini par le vecteur unitaire \vec{s} forme un angle θ avec le vecteur $d\vec{S}$ perpendiculaire à dS (figure 51).

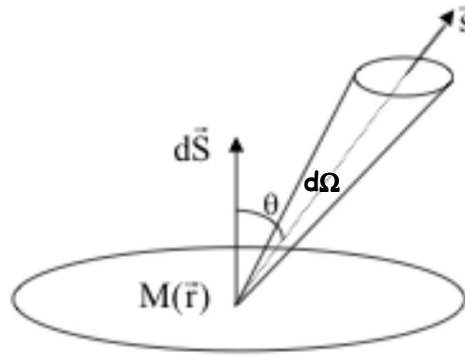


Figure 51 : Définition de la radiance.

Dans l'intervalle de fréquences $\nu, \nu+d\nu$, notons dE_ν l'énergie qui traverse l'élément de surface dS pendant l'intervalle de temps dt et qui se propage dans une direction contenue dans un angle solide $d\Omega$:

$$dE_\nu = I(\vec{r}, \vec{s}, t, \lambda) \cos(\theta) dS d\nu d\Omega dt \quad (44)$$

où $I(\vec{r}, \vec{s}, t, \lambda)$ est l'intensité spécifique exprimée en $\text{W/m}^2/\text{sr}^1/\text{Hz}^{-1}$.

Si dV est un élément de volume cylindrique avec pour axe la direction initiale de propagation (figure 52)

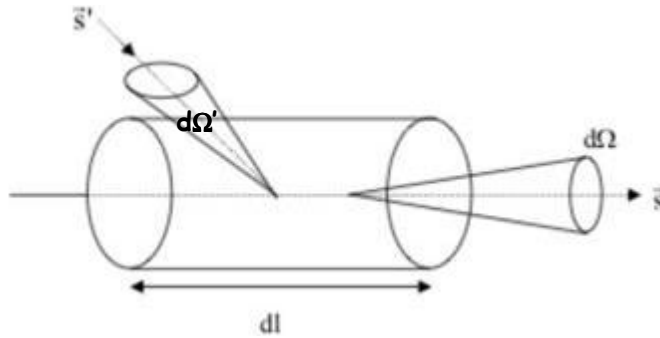


Figure 52 : Élément de volume dV pour le bilan d'énergie.

Dans ce cylindre une énergie $\mu_a I$ va être absorbée et une énergie $\mu_s I$ va être diffusée dans des directions autres que la direction incidente. Si on s'en tient à la diffusion et à l'absorption dans la direction \vec{s} , à partir de cette même direction, la variation d'intensité spécifique dans l'élément de volume dV s'écrit :

$$dI(\vec{r}, \vec{s}, t) = -(\mu_a + \mu_s) I dl = -\mu_t I dl \quad (45)$$

Une augmentation de l'intensité lumineuse dans la direction \vec{s} peut aussi être due à la lumière diffusée et absorbée depuis les autres directions \vec{s}' vers la direction \vec{s} . Si $d\Omega'$ représente un petit angle solide autour de la direction \vec{s}' , l'intensité lumineuse diffusée et absorbée dans la direction \vec{s} à partir des directions autour de \vec{s}' contenues dans $d\Omega'$ peut s'écrire :

$$dI(\vec{r}, \vec{s}, t) d\Omega = \frac{\mu_t}{4\pi} \left(\int_{4\pi} p(\vec{s}, \vec{s}') I(\vec{r}, \vec{s}', t) d\Omega' \right) d\Omega \quad (46)$$

où $p(\vec{s}, \vec{s}')$ est la section efficace différentielle du milieu.

L'intensité lumineuse peut aussi augmenter s'il y a émission de lumière dans le volume considéré :

$$dI(\vec{r}, \vec{s}, t) d\Omega = \mathcal{E}(\vec{r}, \vec{s}, t) dV d\Omega \quad (47)$$

$\mathcal{E}(\vec{r}, \vec{s}, t)$ représente l'énergie émise dans le volume considéré à l'instant t par unité de volume et par unité d'angle solide dans la direction \vec{s} .

L'équation bilan du transfert radiatif (ETR) s'écrit :

$$\frac{1}{c} \frac{\partial I(\vec{r}, \vec{s}, t)}{\partial t} + \vec{s} \cdot \vec{\nabla} I = -\mu_t I(\vec{r}, \vec{s}, t) + \frac{\mu_t}{4\pi} \int_{4\pi} p(\vec{s}, \vec{s}') I(\vec{r}, \vec{s}', t) d\Omega' + \mathcal{E}(\vec{r}, \vec{s}, t) \quad (48)$$

dans laquelle c représente la vitesse de la lumière.

Dans le cas de tissu homogène où le libre parcours de diffusion est petit par rapport au libre parcours d'absorption, ce qui est généralement le cas aux longueurs d'onde supérieures à 600nm, la propagation des photons peut être modélisée par une simple équation de diffusion. Cette équation est obtenue à partir de l'équation du transfert radiatif.

On définit l'intensité diffuse moyenne $\varphi(\vec{r}, t)$ et le courant moyen $\vec{j}(\vec{r}, t)$ respectivement par :

$$\begin{aligned} \varphi(\vec{r}, t) &= \int_{\Omega} I(\vec{r}, \vec{s}, t) d\Omega \\ \vec{j}(\vec{r}, t) &= \int_{\Omega} I(\vec{r}, \vec{s}, t) \vec{s} d\Omega \end{aligned} \quad (49)$$

D'autre part, la définition de la fonction de phase du milieu impose que :

$$\int_{\Omega} p(\vec{s}, \vec{s}') d\Omega = 4\pi W = 4\pi \frac{\mu_s}{\mu_t} \quad (50)$$

Où W représente l'albédo du milieu (coefficient de réflexion) défini comme étant égal à μ_s/μ_t .

De même, à partir de la définition du facteur d'anisotropie g (équation 42), on déduit que :

$$\int_{\Omega} p(\vec{s}, \vec{s}') \cdot \vec{s} d\Omega = 4\pi W g \vec{s}' \quad (51)$$

L'équation 48 intégrée sur $d\Omega$, en tenant compte de 49 et 50, donne l'équation de la conservation de l'énergie :

$$\frac{1}{c} \frac{\partial}{\partial t} \varphi(\vec{r}, t) + \vec{\nabla} \cdot \vec{j}(\vec{r}, t) = -\mu_a \varphi(\vec{r}, t) + S_0(\vec{r}, t) \quad (52)$$

dans laquelle $S_0(\vec{r}, t)$ est le terme source $S_0(\vec{r}, t) = \int_{\Omega} \mathcal{E}(\vec{r}, \vec{s}, t) d\Omega$.

On obtient l'équation de propagation du courant moyen en multipliant l'ETR (équation 48) par \vec{s} et en intégrant sur Ω :

$$\begin{aligned} \frac{1}{c} \frac{\partial}{\partial t} \vec{j}(\vec{r}, t) + \int_{\Omega} (\vec{s} \cdot \vec{\nabla} I(\vec{r}, \vec{s}, t)) \cdot \vec{s} d\Omega &= -(\mu_a + \mu'_s) \vec{j}(\vec{r}, t) + \vec{S}_1(\vec{r}, t) \\ \vec{S}_1(\vec{r}, t) &= \int_{\Omega} \varepsilon(\vec{r}, \vec{s}, t) \cdot \vec{s} d\Omega \end{aligned} \quad (53)$$

où μ'_s représente le coefficient de diffusion réduit (équation 43).

L'intensité spécifique se décompose à l'ordre 1 comme la somme d'un terme isotrope et d'une contribution anisotrope :

$$I(\vec{r}, \vec{s}, t) = A(\vec{r}, t) + \vec{B}(\vec{r}, t) \cdot \vec{s} \quad (54)$$

L'approximation de la diffusion implique de considérer l'intensité spécifique comme quasiment isotrope, c'est-à-dire : $\|\vec{B}\| \ll A$.

En utilisant la définition de l'intensité diffuse moyenne et en tenant compte du fait que $\int_{\Omega} \vec{B}(\vec{r}, t) \cdot \vec{s} d\Omega = 0$, il vient :

$$\varphi(\vec{r}, t) = \int_{\Omega} I(\vec{r}, \vec{s}, t) d\Omega = 4\pi A(\vec{r}, t) \quad (55)$$

De même, en utilisant la définition du courant moyen et en tenant compte du fait que

$\int_{\Omega} A \cdot \vec{s} d\Omega = 0$ et que $\int_{\Omega} \vec{B} \cdot \vec{s} \cdot \vec{s} d\Omega = \frac{4\pi}{3} \vec{B}$, on a :

$$\vec{j}(\vec{r}, t) = \int_{\Omega} I(\vec{r}, \vec{s}, t) \cdot \vec{s} d\Omega = \frac{4\pi}{3} \vec{B}(\vec{r}, t) \quad (56)$$

A partir des équations 55 et 56, l'intensité spécifique I peut s'écrire :

$$I(\vec{r}, \vec{s}, t) = \frac{1}{4\pi} [\varphi(\vec{r}, t) + 3 \vec{j}(\vec{r}, t) \cdot \vec{s}] \quad (57)$$

A partir de l'équation 57, on peut déduire :

$$\int_{\Omega} (\vec{s} \cdot \vec{\nabla} I) \cdot \vec{s} d\Omega = \frac{1}{3} \vec{\nabla} \varphi(\vec{r}, t) \quad (58)$$

En tenant compte de 58, l'équation 53 devient :

$$\frac{1}{c} \frac{\partial}{\partial t} \vec{j}(\vec{r}, t) + \frac{1}{3} \vec{\nabla} \varphi(\vec{r}, t) = -(\mu_a + \mu'_s) \vec{j}(\vec{r}, t) + \vec{S}_1(\vec{r}, t) \quad (59)$$

Si on suppose que l'intensité diffuse moyenne et le courant moyen sont constants au cours du temps, on obtient à partir de 59 :

$$\vec{j}(\vec{r}) = \frac{1}{\mu_a + \mu'_s} \left[\vec{S}_1(\vec{r}) - \frac{1}{3} \vec{\nabla} \varphi(\vec{r}) \right] \quad (60)$$

En reportant 60 dans 52, on obtient une équation de diffusion :

$$\frac{1}{3(\mu_a + \mu_s')} \nabla^2 \varphi(\vec{r}) + \mu_a \varphi(\vec{r}) = S_0(\vec{r}) - \frac{1}{\mu_a + \mu_s} \nabla \vec{S}_1(\vec{r}) \quad (61)$$

En introduisant le coefficient de diffusion effectif $\mu_{eff} = \sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu_s')}$ et en supposant S isotrope ($S=S_0$), l'équation de diffusion devient :

$$[\nabla^2 - \mu_{eff}^2] \varphi(\vec{r}) = -\mu_{eff}^2 S_0(\vec{r}) \quad (62)$$

On définit le coefficient de diffusion D par :

$$D = \frac{1}{3(\mu_s' + \mu_a)} \approx \frac{1}{3\mu_s'} \quad (63)$$

A partir de l'équation de la diffusion 62, l'expression de l'intensité diffuse $f(r)$ en un point situé à une distance R d'une source de photons S peut être modélisée comme suit :

$$\varphi(\vec{r}) = \frac{P}{4\pi D r} \exp(-\mu_{eff} r) \quad (64)$$

où P est la puissance totale émise par la source S.

En tenant compte de 57, l'expression de la radiance L ($W/cm^2/sr$) dans la direction \vec{s} est donnée par :

$$L(r, \vec{s}) = \frac{1}{4\pi} [\varphi(r) + 3j(r) \cdot \vec{s}] \quad (65)$$

III-3-2- Les éléments dimensionnant en imagerie optique moléculaire

Les systèmes d'imagerie optique couramment utilisés dans le cadre de l'imagerie in vivo ont (Figure 53) pour but d'imager à la surface du petit animal, les photons émis par une source située à une profondeur r.

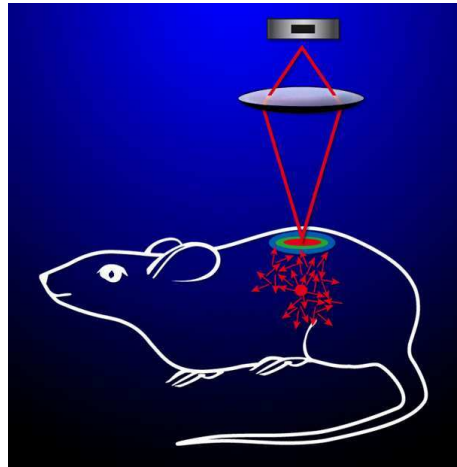


Figure 53 : Synoptique d'un système d'imagerie optique in vivo en réflectance.

L'approximation de la diffusion est un outil maintenant très classique qui permet de ramener l'équation du transfert radiatif à une simple équation de diffusion. Mais si

l'équation de la diffusion est bien connue, le traitement des conditions aux limites aux interfaces est un point plus délicat.

L'intensité diffuse en un point situé sur la surface du petit animal peut être calculée en choisissant des conditions aux limites adéquates [IM : 19,20].

L'interface avec la surface sortante du petit animal étant de l'air, la condition aux limites qui a été choisie ici est que l'intensité diffuse moyenne doit s'annuler sur une surface d'extrapolation située à une distance z_b de la surface libre (Figure 54).

$$Z_b = 2.D. \frac{1 - R_{eff}}{1 + R_{eff}}. \quad (66)$$

où R_{eff} est le coefficient effectif de réflexion moyenné sur tous les angles d'incidence à l'interface et dont la valeur se situe typiquement entre 0.3 et 0.5.

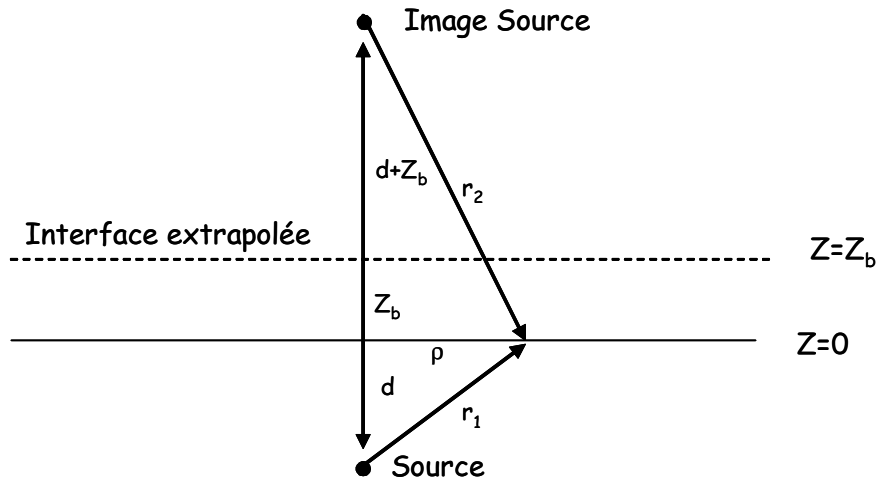


Figure 54 : Schéma des conditions aux limites du modèle de diffusion.

L'intensité diffusée à la frontière est la somme des contributions de la source et de son image.

$$\varphi(z=0) = \frac{P}{4\pi D} \left[\frac{e^{-\mu_{eff} r_1}}{r_1} - \frac{e^{-\mu_{eff} r_2}}{r_2} \right] \quad (67)$$

L'expression de la dérivée normale peut s'écrire :

$$\frac{\partial \varphi}{\partial z}(z=0) = \frac{-P}{4\pi D} \left[\frac{d}{r_1^2} \left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_1} \right) e^{-\mu_{eff} r_1} + \frac{d + 2z_b}{r_2^2} \left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_2} \right) e^{-\mu_{eff} r_2} \right] \quad (68)$$

avec $r_1 = [\rho^2 + d^2]^{1/2}$ et $r_2 = [\rho^2 + (d + 2z_b)^2]^{1/2}$ où d représente la profondeur de la source.

Par la suite, la radiance à l'interface s'écrit :

$$L_{z=0} = \frac{1}{4\pi} \left(\frac{P}{4\pi D} \right) \left\{ \frac{e^{-\mu_{eff} r_1}}{r_1} - \frac{e^{-\mu_{eff} r_2}}{r_2} + 3D \left[\frac{d}{r_1^2} \left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_1} \right) e^{-\mu_{eff} r_1} + \frac{d + 2z_b}{r_2^2} \left(\mu_{eff} + \frac{1}{r_2} \right) e^{-\mu_{eff} r_2} \right] \right\} \quad (69)$$

Les paramètres caractéristiques d'un système d'imagerie optique sont, comme en imagerie neutronique, essentiellement la quantité de signal détecté et le rapport

signal sur bruit. Ces deux paramètres vont déterminer la valeur de la résolution spatiale fournie par le dispositif expérimental.

Les éléments dimensionnant sont les caractéristiques de la source (le nombre de cellules bioluminescentes ou fluorescentes), la longueur d'onde utilisée et la profondeur de la source.

III-3-2-1- Les caractéristiques de la zone d'émission en surface

Les caractéristiques de l'émission à la surface du petit animal dépendent de la profondeur de la source, des caractéristiques des tissus vivant traversés par les photons (coefficients d'absorption et de diffusion) et de la longueur d'onde du rayonnement.

Le maximum de la radiance à l'interface $L_{z=0}$ (équation 69), obtenu pour $\rho=0$ (voir expressions de r_1 et r_2 dans l'équation 68), peut être interprété comme le produit de P par un facteur d'atténuation dépendant de la profondeur de la source d et de la longueur d'onde λ . Le graphe de la figure 55 représente la variation de ce facteur d'atténuation en fonction de d pour trois longueurs d'onde : 650nm, 590nm, 550nm, chacune d'elles correspondant à des coefficients de diffusion et d'absorption différents.

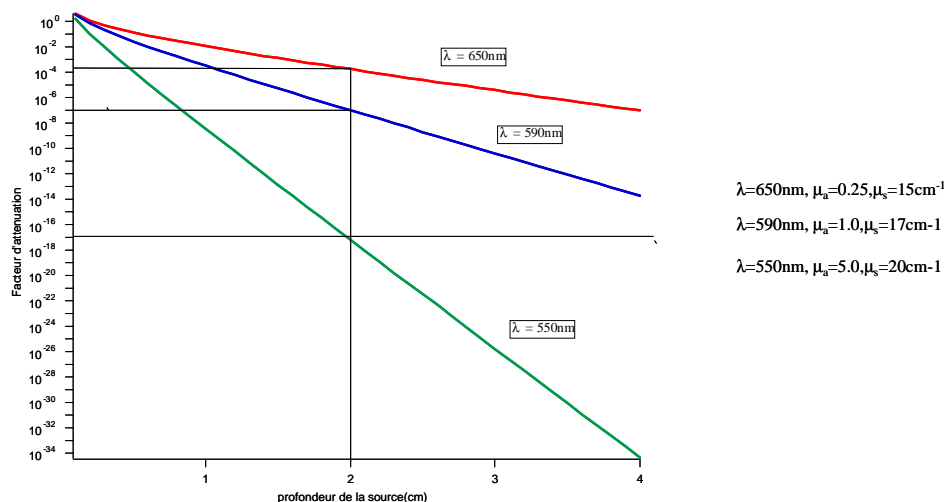


Figure 55 : Facteur d'atténuation en fonction de la profondeur
Pour $\lambda=650\text{nm}$, 590nm , 550nm .

L'intensité diffusée à la surface du petit animal $\phi(z=0)$ (équation 67) atteint sa valeur maximale $\phi_{\max}(z=0)$ pour $\rho=0$ (voir expressions de r_1 et r_2 dans l'équation 68) et décroît jusqu'à une valeur négligeable pour $\rho=\rho_0$. La largeur à mi hauteur de la zone émissive à la surface du petit animal ρ_m est définie comme étant la valeur de ρ pour laquelle $\phi(z=0, \rho=\rho_m) = \phi_{\max}(z=0, \rho=0)/2$. Le graphe représenté en figure 56 décrit la variation de ρ_m en fonction de d pour les trois mêmes longueurs d'onde.

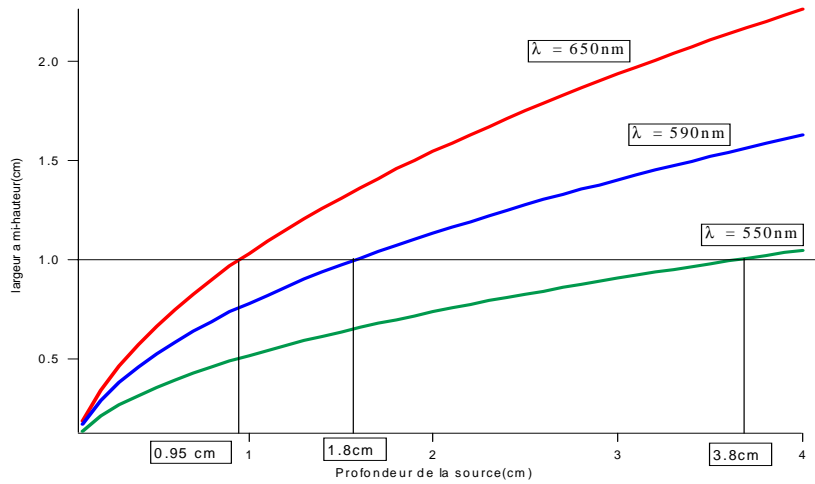


Figure 56 : Largeur à mi hauteur de la zone émissive en fonction de la profondeur de la source pour les mêmes longueurs d'onde.

III-3-2-2- L'intensité du signal détecté

La quantité d'information recueillie au niveau de la CCD dépend à la fois de la quantité de cellules bioluminescentes ou fluorescentes, de leurs localisations en profondeur et de la sensibilité de la caméra CCD [IM : 19]. La grandeur qui caractérise le mieux une CCD est le rapport signal sur bruit SNR.

En supposant que la statistique de détection suit une loi de Poisson et dans le cas de cellules bioluminescentes, le SNR a pour expression:

$$SNR = \frac{N_e}{\sqrt{N_e + R_N^2 + D_c}} \quad (70)$$

où N_e représente le signal détecté en nombre d'électrons par pixel, R_N et D_c sont respectivement le bruit de lecture et le courant d'obscurité en électrons par pixels. Si on résout l'équation 70 par rapport à N_e , on obtient le signal associé à un rapport signal sur bruit donne :

$$N_e = \frac{SNR \left(SNR + \sqrt{SNR^2 + 4(R_N^2 + D_c)} \right)}{2} \quad (71)$$

Dans le cas de la fluorescence, la sensibilité du système est limitée par l'autofluorescence des tissus due au rayonnement d'excitation. On définit dans ce cas le coefficient d'autofluorescence η_f :

$$\eta_f = \frac{L}{E} \quad (72)$$

où E représente le nombre de photons excitateurs et L le nombre de photons autofluorescent induits.

L'expression du rapport signal sur bruit associé SNR_f a pour expression :

$$SNR_f = \frac{N_e}{\sqrt{N_e(1 + \eta_f) + D_c + R_N^2}} \quad (73)$$

La valeur de N_e associée s'écrit :

$$N_e = \frac{SNR \left[SNR(1 + \eta_f) + \sqrt{SNR^2(1 + \eta_f)^2 + 4(R_N^2 + D_c)} \right]}{2} \quad (74)$$

On peut exprimer aussi N_e en fonction du nombre de cellules fluorescentes ou bioluminescentes C_n :

$$N_e = dS \cdot d\Omega \cdot C_n \cdot n_p \cdot \tau \cdot L_n \cdot q_E \quad (75)$$

dS représente la surface d'un pixel ramenée dans le plan objet, $d\Omega$ est l'angle solide de collection sous tendu par un pixel détecteur, n_p est le nombre de photons par seconde émis par une cellule, τ est le temps de mesure, q_E est l'efficacité quantique de la CCD. L_n est la radiance normalisée à la surface du petit animal. $L_n = L_{Z=0}/P$ (équation 69) où P est le nombre de photons émis c'est-à-dire $P = C_n \cdot n_p \cdot \tau$. Ce coefficient peut être interprété comme un coefficient de transmission dans les tissus vivants.

En reportant 71 ou 74 dans 75 suivant qu'il s'agit de cellules bioluminescentes ou fluorescentes il vient :

$$C_{nb} = \frac{SNR \left(SNR + \sqrt{SNR^2 + 4(R_N^2 + D_c)} \right)}{2dSd\Omega n_p \tau q_E L_n} \quad (76)$$

$$C_{nf} = \frac{SNR \left(SNR(1 + \eta_f) + \sqrt{SNR^2(1 + \eta_f)^2 + 4(D_c + R_N^2)} \right)}{2dSd\Omega n_p \tau q_E L_n}$$

C_{nb} et C_{nf} représentent respectivement le nombre de cellules bioluminescentes et fluorescentes correspondant à un SNR donné.

III-3-3- Estimation de la résolution spatiale

La résolution spatiale Δs est définie comme étant la distance minimum permettant de dissocier deux détails de même diamètre dans l'objet. Pour simplifier le problème, si on considère que les détails observés dans le plan objet sont, en l'absence de bruit, deux fonctions Dirac de même intensité, au niveau du plan détecteur, les deux signaux observés peuvent s'apparenter à deux gaussiennes de largeur à mi-hauteur D et distantes de d_{min} . D est alors identifié à la résolution géométrique dans le plan du détecteur.

Dans ce cas, le creux entre les deux gaussiennes disparaît lorsqu'elles se croisent à mi-hauteur. L'expression de la résolution spatiale dans le plan objet peut s'écrire :

$$\Delta s = \frac{d_{min}}{G} = \frac{D}{G} \quad (77)$$

où G est le grandissement du système optique. Δs est dans ce cas la résolution optimum et est égale à la résolution géométrique du système dans le plan objet.

En présence de bruit (figure 57), la dégradation du signal ne permet plus de rapprocher les deux signaux jusqu'à leur moitié. Il faut alors déterminer à quelle

proportion h de leur hauteur, les deux gaussiennes peuvent se croiser tout en conservant un creux de signal dS discernable.

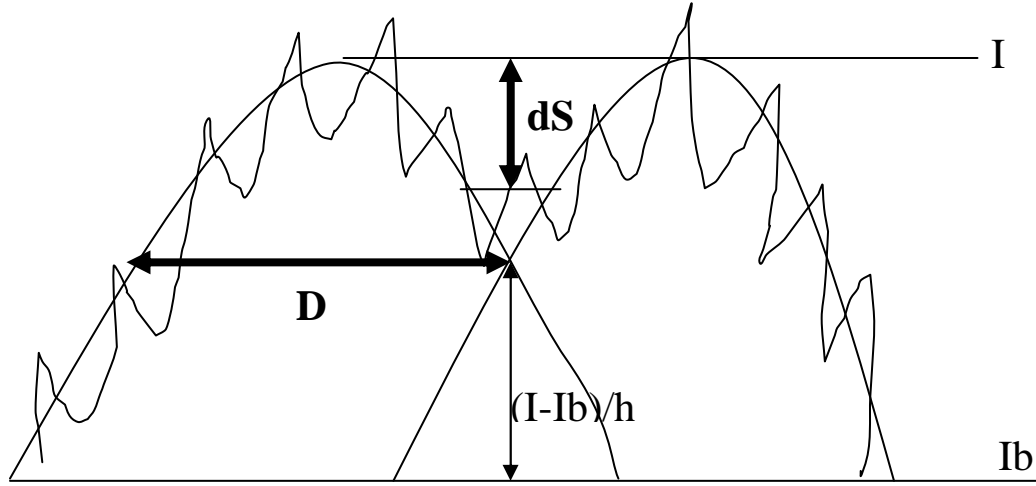


Figure 57 : Creux de signal dans le cas bruité.

L'expression de dS est donnée par :

$$dS = (I - I_b) - 2\left(\frac{I - I_b}{h}\right) \quad (78)$$

où I représente l'intensité maximum de chacun de deux signaux. Les deux signaux seront discernables s'ils vérifient la condition :

$$dS \geq k\sigma_b \quad (79)$$

σ_b^2 représente la variance du bruit et k est un coefficient dépendant du seuil de détection retenu.

Par ailleurs si on définit le rapport signal sur bruit par :

$$SNR = \frac{I - I_b}{\sigma_b} \quad (80)$$

D'après les expressions de dS et du rapport signal sur bruit, la fraction h de la hauteur $\Delta I = I - I_b$ de chacune des gaussiennes à laquelle il faut se placer est au moins de :

$$h_{\min} = \frac{2SNR}{SNR - k} \quad (81)$$

Si la distance Δ entre les deux gaussiennes est :

$$\Delta = D \sqrt{\frac{\ln(h)}{\ln(2)}} \quad (82)$$

La variation du coefficient d'élargissement Δ/D en fonction du SNR est représentée dans le graphe en prenant $k=1$ (figure 58).

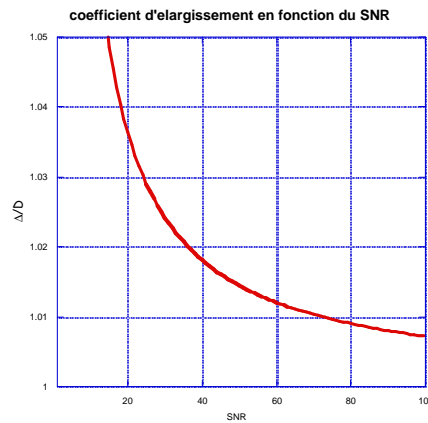


Figure 58 : Variation du facteur d'élargissement en fonction du SNR.

III-3-4- Application aux dispositifs de la gamme IVIS commercialisés par la société XENOGEN (USA)

L'imagerie biophotonique in vivo nécessite l'utilisation de camera CCD présentant un haut rendement quantique pour des longueurs d'ondes supérieures à 600nm et un niveau de bruit le plus faible possible pour détecter des sources à quelques cm de profondeur. Le choix adopté pour l'IVIS 100 est une CCD refroidie (-105 degrés Celsius) de type Roper-Scientific 36-40b permettant de compter les photons pendant un temps d'acquisition donné.

La structure de l'IVIS 100 commercialisé par XENOGEN est représentée dans la figure 59.

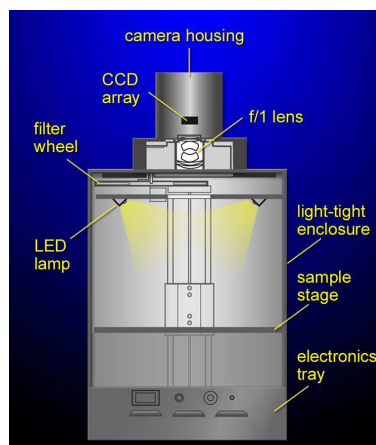


Figure 59 : Structure du système IVIS 100.

La camera CCD est couplée à une chambre d'imagerie étanche aux rayonnements extérieurs, à l'intérieur de laquelle se trouve un plateau de travail sur lequel se trouve le petit animal anesthésié. La lumière provenant du petit animal est collectée et imagée sur la camera CCD par l'intermédiaire d'une lentille. La position du plateau de travail peut varier par un système motorisé permettant ainsi de faire varier sa distance par rapport à la lentille et d'obtenir des champs d'observation variant de 10 à 25cm. Un barillet porte filtre à sept positions est placé devant la lentille permettant de faire de l'imagerie spectrale.

Un facteur important qu'il est nécessaire de déterminer pour toute application in vivo d'un système type IVIS est de déterminer la quantité de cellules bioluminescentes ou fluorescentes nécessaires à l'obtention d'un rapport signal sur bruit donné en fonction de la profondeur de la source (équation 76). On fixera le bruit de lecture R_n à 5 électrons, le courant d'obscurité D_c à 0.001 électrons/pixel/ seconde, l'efficacité quantique de la photocathode de la CCD Q_E à 0.85, le temps de mesure τ à 60s et la taille du pixel détecteur à $13.5\mu m$. Les distances plateau de travail-lentille et lentille-CCD seront fixées respectivement à 10.75 et 7.16cm et le grandissement du système sera de 1.5.

III-3-4-1- Nombres de cellules bioluminescentes

Les graphes de la figure 60 représentent la variation du nombre de cellules bioluminescentes nécessaire à l'obtention d'un rapport signal sur bruit de 10 et de 100 en fonction de la profondeur de la source. Le nombre de photons par secondes ρ_c émis par une cellule bioluminescente est de 170photons. Les longueurs d'onde choisies sont les mêmes que précédemment, c'est-à-dire 650, 590 et 550nm.

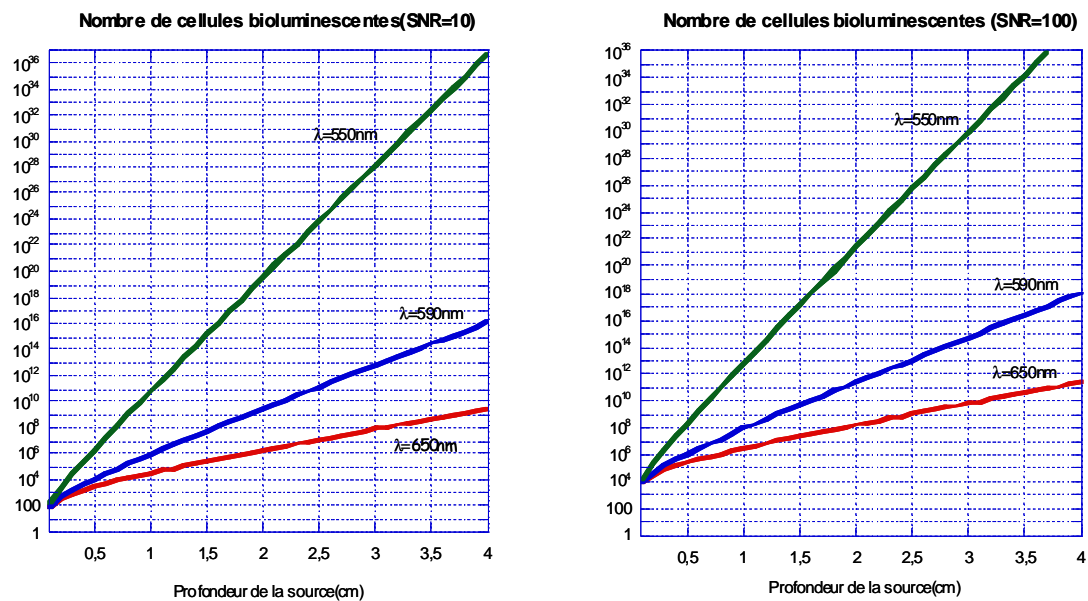


Figure 60 : Nombre de cellules bioluminescentes en fonction de la longueur d'onde et de la profondeur de la source pour respectivement un SNR de 10 et de 100.

III-3-4-2- Nombres de cellules fluorescentes

Les deux graphes de la figure 61 représentent le nombre minimum de cellules fluorescentes nécessaire à l'obtention d'un rapport signal sur bruit de 10 et de 100. Le coefficient d'autofluorescence η_f a été fixe à $1.2 \cdot 10^{-4}$ pour les longueurs d'onde 550 et 590nm et à $2.4 \cdot 10^{-5}$ pour la longueur d'onde 650nm.

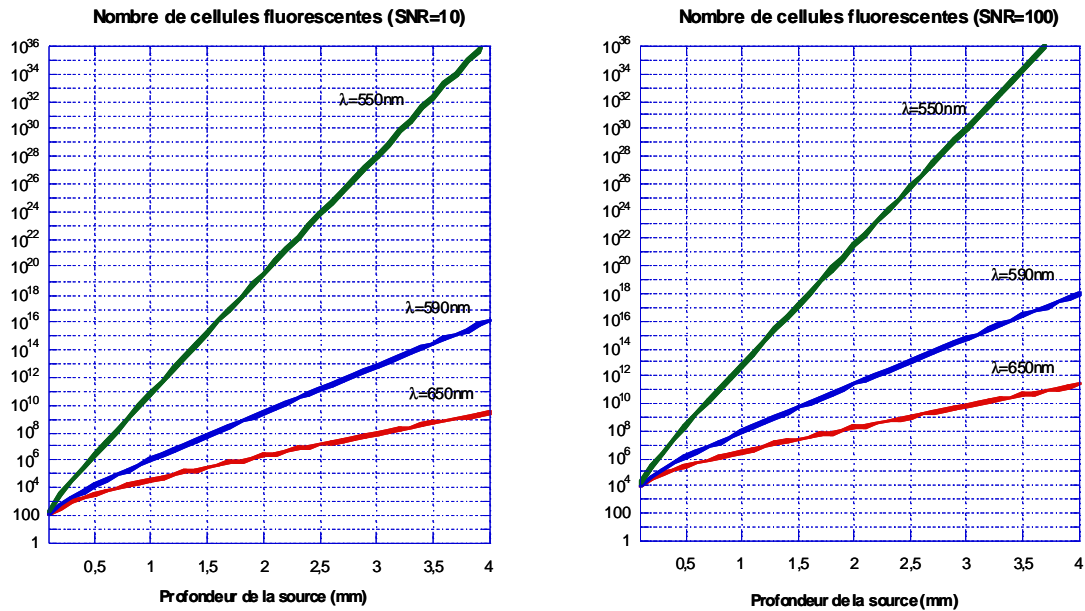


Figure 61 : Nombre de cellules fluorescentes en fonction de la longueur d'onde et de la profondeur de la source avec respectivement un SNR de 10 et de 100.

IV- Les méthodes de correction et de reconstruction d'images développées en imagerie neutronique

Les méthodes numériques d'analyse appliquées à l'image expérimentale se scindent en deux catégories : la première catégorie comprend les méthodes dédiées à corriger les dégradations induites par le dispositif expérimental d'imagerie ; les méthodes appartenant à la deuxième catégorie ont pour but de transposer l'image expérimentale dans le plan objet. Les paragraphes 1 et 2 décrivent respectivement les méthodes d'analyse que j'ai développées. Le paragraphe 3 présente l'application de ces méthodes sur des résultats obtenus lors de campagnes de tirs que j'ai menées sur l'installation Phébus (Limeil) à l'aide de la version optimisée du dispositif expérimental décrite au paragraphe 2-6-2 de la partie III (figure 45). Le quatrième et dernier paragraphe décrit SIRINC (Simulation and Reconstruction Imaging Neutron Code), un code numérique que j'ai développé pour répondre aux besoins des installations Américaines d'OMEGA (LLE) et NIF (LLNL) concernant le développement d'un diagnostic d'imagerie neutronique. La version de SIRINC décrite traite les problèmes direct et inverse posés par le diagnostic d'imagerie neutronique et a pour objectifs de reconstruire la source dans le plan objet, d'estimer la résolution spatiale optimum que l'on peut espérer obtenir dans la source reconstruite et d'optimiser les performances de la chaîne de mesure. Les performances et les limites de SIRINC ont été estimées à l'aide d'images test. Le code SIRINC a été appliqué sur des résultats expérimentaux obtenus sur l'installation OMEGA(LLE).

IV-1 Les prétraitements appliqués à l'image expérimentale brute

Les dégradations apportées par le système de détection enregistrement sont:

- L'effet de grille dû à l'absence d'information entre deux bâtonnets scintillants adjacents du détecteur.
- Les déformations spatiales apportées par les variations locales de sensibilité du détecteur et les réducteurs à fibres optiques.
- L'effet de vignettage dû aux différences de trajet optique des photons dans les réducteurs à fibres optiques.
- Le bruit provoqué par le détecteur et par la statistique de conversion photons-photoélectrons au niveau de la photocathode de ce dernier.

IV-1-1 Suppression de l'effet de grille

Chaque bâtonnet scintillant du détecteur est isolé optiquement de ses voisins de manière à éviter l'effet de diaphonie entre bâtonnets adjacents. D'autre part, l'ensemble des bâtonnets du détecteur ne forme pas un pavage régulier et la récupération de l'information manquante ne peut pas s'effectuer par interpolation. La largeur d'un bâtonnet étant de 6 pixels CCD, pour éliminer l'effet de grille, on a utilisé dans un premier temps un filtre moyen opérant localement sur des fenêtres 5x5 pixels. Si cette opération permet de récupérer l'information manquante de l'effet de grille, elle a le défaut de brouiller l'information en la moyennant. En particulier, les contrastes entre les zones de pleine lumière, de pénombre et celle du

détecteur hors champ se trouvent lissés. Pour optimiser cette étape j'ai utilisé un filtrage de Osher-Rudin [FCI: 30] qui est développé ci-dessous.

On suppose que l'image brute I_0 vérifie le modèle $I_0=I+n$ avec I l'image sans effet de grille et n un bruit gaussien de moyenne nulle et de variance connue. Plusieurs méthodes connues permettent d'obtenir la meilleure solution possible pour un filtre moyen 5x5 :

- Les « moindres carrés » qui cherchent à minimiser la distance entre I et I_0 .

$$d(I) = \iint_{x,y} [I(x,y) - I_0(x,y)]^2 dx dy \quad (83)$$

- Le « maximum d'entropie » $ME(I)$ cherche à maximiser la vraisemblance de l'information.

$$ME(I) = -\iint_S [I(x,y) - \ln(I(x,y))] dx dy \quad (84)$$

- L'optimisation des contraintes sur le Laplacien et la résolution d'un système d'équations linéaires.

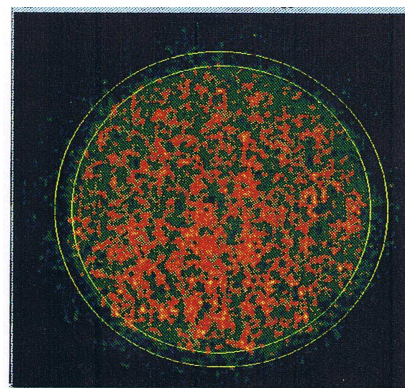
$$MinPh(I) = \iint_S [I_{xx} + I_{yy}]^2 dx dy \quad (85)$$

Dans (83), (84), (85), l'intégration porte sur S qui est la surface du détecteur.

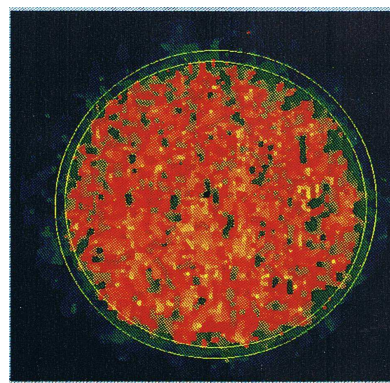
Le filtre proposé par Osher-Rudin est une autre méthode qui consiste à minimiser la norme du gradient $L(I)$.

$$L(I) = \iint_S \left[\left(\frac{\partial I}{\partial x} \right)^2 + \left(\frac{\partial I}{\partial y} \right)^2 \right]^{1/2} dx dy \quad (86)$$

Le remplacement du filtre moyen 5x5 par le filtre Osher-Rudin a permis d'obtenir de meilleurs résultats (Figure 62).



Lissage 5x5



Filtre de Osher-Rudin

Figure 62 : Comparaison des résultats obtenus respectivement avec un lissage sur des fenêtres 5x5 et le filtre de Osher-Rudin.

L'intérêt du filtre de Osher-Rudin est d'enlever les fluctuations locales tout en conservant le contraste dans l'image. L'opération de lissage, si elle permet de récupérer l'information manquante, a le défaut de brouiller l'information en la moyennant et de lisser les contrastes.

IV-1-2 Corrections géométriques

Les déformations spatiales ont été corrigées à l'aide de l'image d'une grille de points régulièrement espacés, placée sur la face avant du détecteur et éclairée en lumière visible. La méthode numérique employée ensuite est dérivée des techniques de « Warping » [FCI: 23]. Plus précisément, si on note T la transformation qui relie les coordonnées des points $X=(x_i, y_j)$ de la grille de référence avec ceux $X'=(x'_i, y'_j)$ de l'image de la grille obtenue expérimentalement, et si on modélise T par une fonction polynomiale, le problème revient à résoudre le système $X'=A*X$ où A est la matrice caractérisant T . L'écart quadratique entre X et X' est ensuite minimisé pour pouvoir réaliser une interpolation entre les points de références. On obtient alors l'image corrigée (figure 63).

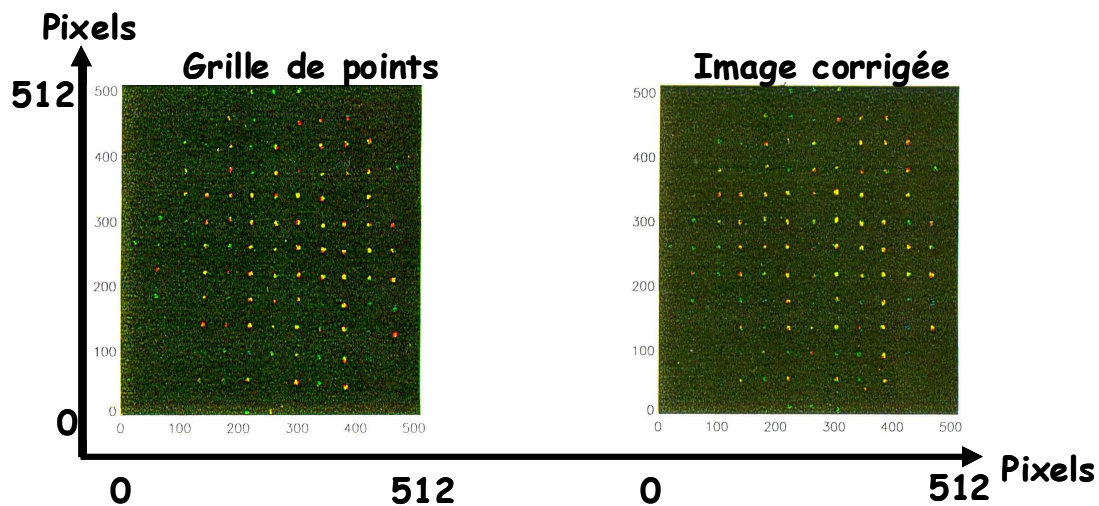


Figure 63 : Image d'une grille de points éclairée en lumière visible et son image corrigée obtenues sur Phébus pour caractériser la nouvelle version de la caméra installée sur le diagnostic d'imagerie neutronique.

IV-1-3 Corrections photométriques

La correction de l'effet de vignettage a été réalisée au moyen d'images obtenues à partir de plusieurs tirs à haut flux sans diaphragme (figure 64). Par lissage parabolique de la moyenne de ces images on obtient une image de correction (figure 65) représentant la surface la plus homogène possible exprimant la déformation [FCI: 22, 23].

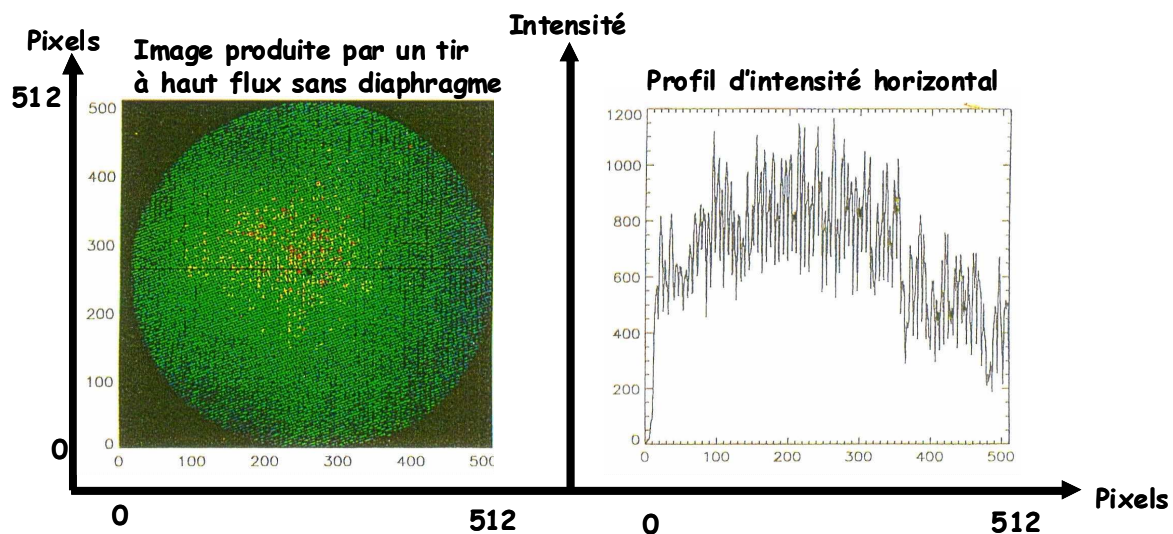


Figure 64 : Tir à haut flux sans diaphragme réalisé sur l'installation Phébus pour corriger l'effet de vignettage. L'échelle d'intensité est définie relativement au nombre d'évènements détectés.

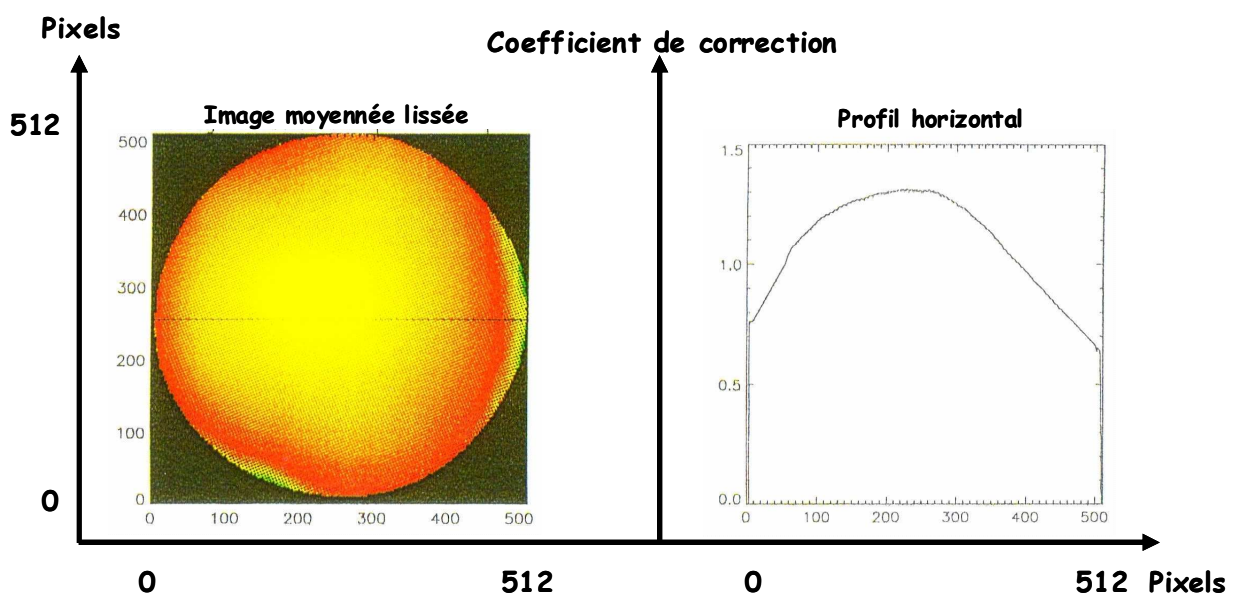


Figure 65 : Image de correction photométrique et un profil horizontal.

IV-1-4 Débruitage

Le bruit de fond du détecteur est essentiellement causé par les neutrons passant par le matériau formant le diaphragme. Ce bruit de fond est un bruit additif et se matérialise par un piédestal sur les différents profils de l'image.

La valeur de ce piédestal est estimée à partir de plusieurs profils de la même image. Il est ensuite soustrait de l'image expérimentale.

Du fait qu'aucune modélisation du bruit généré par l'intensificateur utilisé lors de nos dernières campagnes de tirs, n'était disponible, le détecteur a été placé à une distance de la cible telle que chaque micro canal de l'intensificateur reçoive au plus un

photoélectron. Ainsi, le bruit apporté par l'intensificateur représente le courant d'obscurité et peut être négligé.

IV-1-5 Résultats expérimentaux corrigés des effets induits par le système d'imagerie

Les prétraitements décrits précédemment ont été appliqués sur des images neutroniques que j'ai obtenues sur l'installation Phébus en 1995. Les figures 66, 67 et 68 représentent les images expérimentales brutes ainsi que les résultats après application des prétraitements pour des tirs en attaque indirecte avec respectivement des flux neutronique de $2.5 \cdot 10^8$, $6.3 \cdot 10^8$ et $3.4 \cdot 10^9$ et neutrons dans les 4π . L'échelle d'intensité prise sur les différents profils a été codée sur une échelle de couleurs relativement aux nombre d'évènements détectés sur chaque pixel du détecteur.

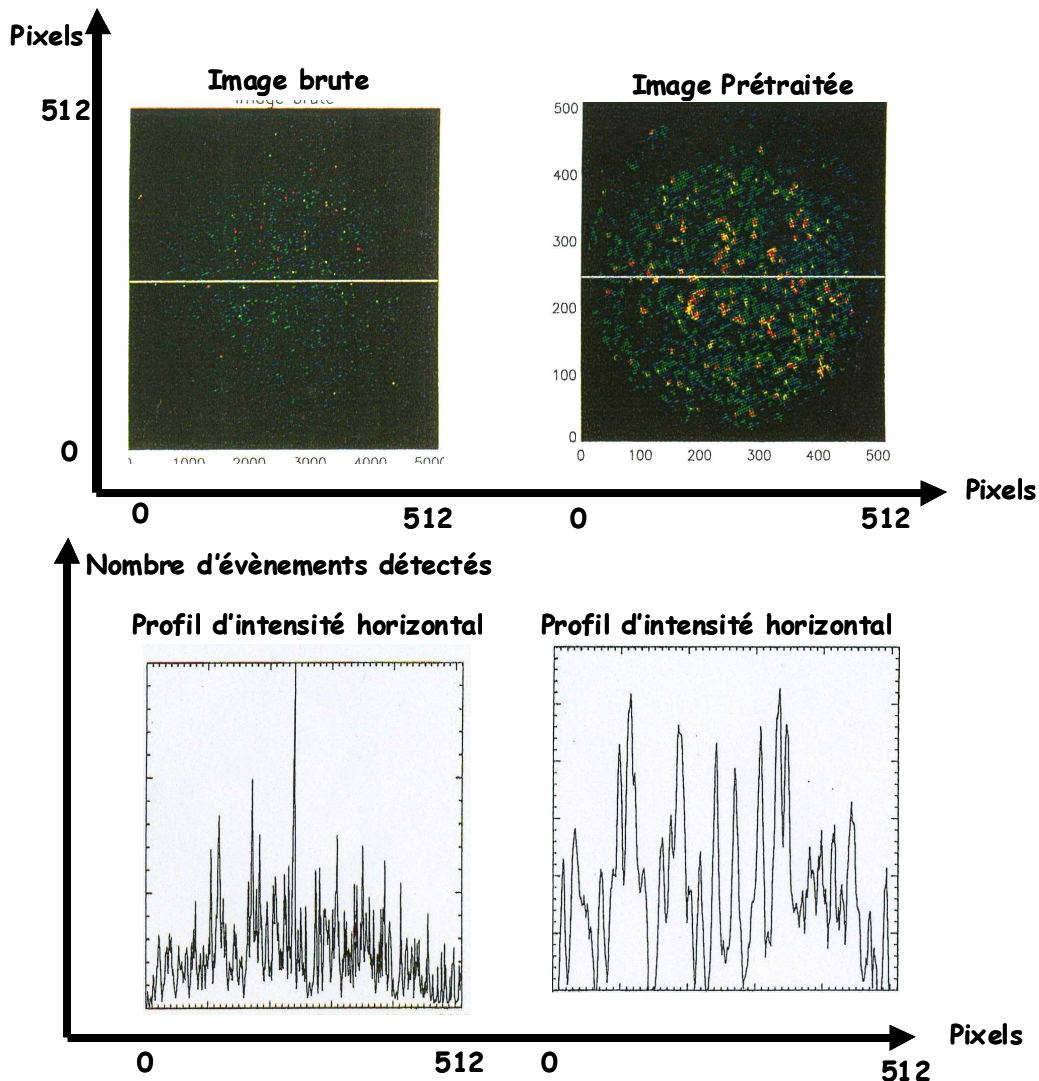


Figure 66 : Images brute et prétraitée du tir en attaque indirecte $N_n = 2.5 \cdot 10^8$ neutrons dans les 4π .

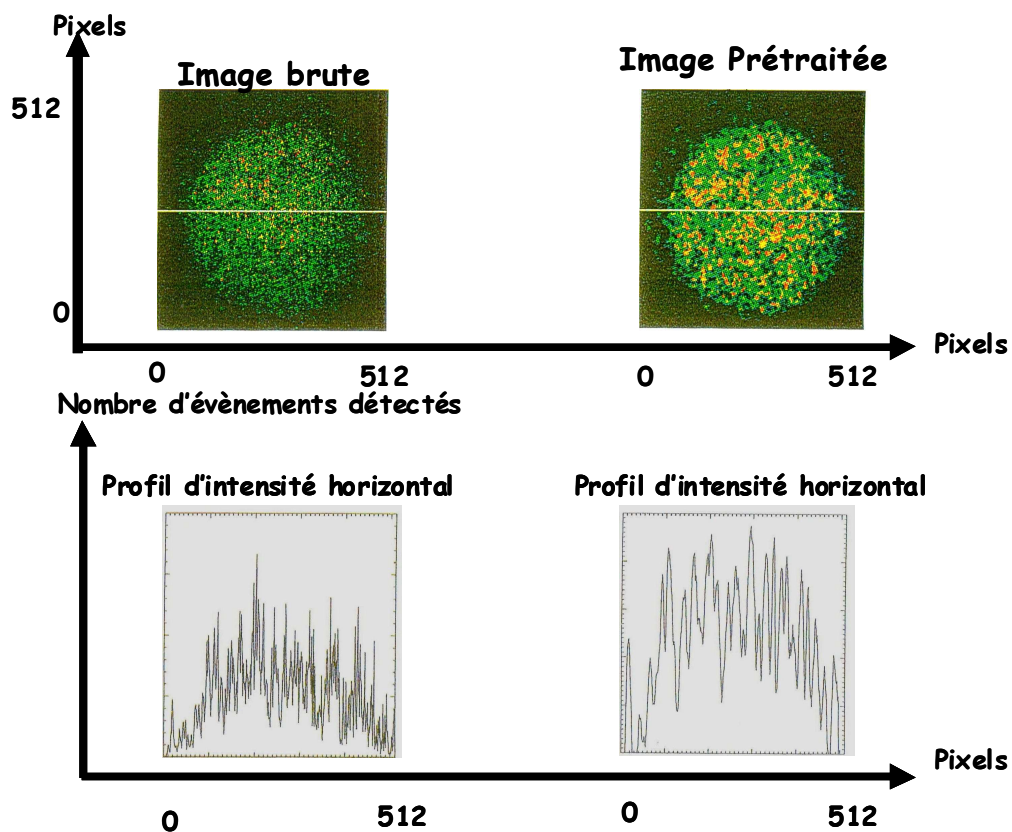


Figure 67 : Image brute et prétraitée du tir en attaque indirecte $N_n = 6.3 \cdot 10^8$ neutrons dans les 4π .

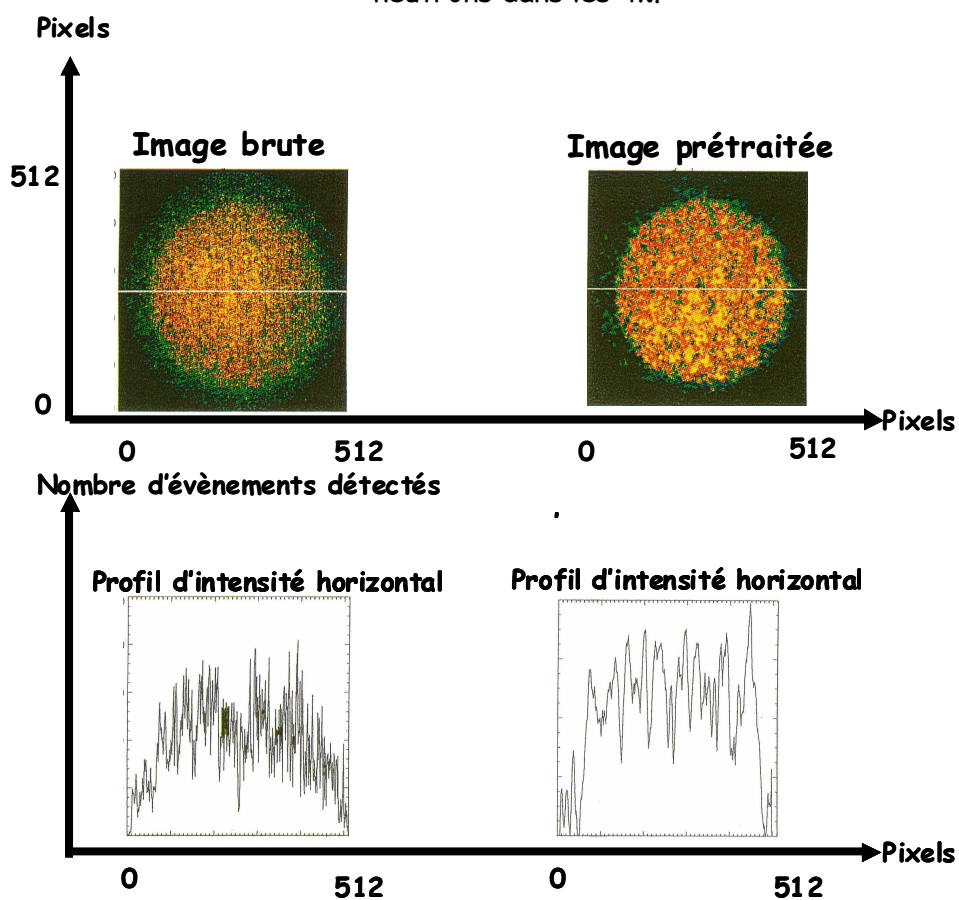


Figure 68 : Images brute et prétraitée du tir en attaque indirecte $N_n = 3.4 \cdot 10^9$ neutrons dans les 4π .

IV-2 Les méthodes numériques de reconstruction de la source dans le plan objet

L'image acquise dans le plan de détection I est le résultat de la convolution de l'image de l'objet dans le plan objet O par l'image de l'ouverture A ($I=O*A$, l'opérateur *représente la convolution). Il est donc nécessaire de développer des méthodes numériques capables de reconstruire O à partir de la connaissance de I et de A. La version initiale du dispositif d'imagerie installée sur Phébus à Limeil (paragraphe 2-6-1 de la partie III, figure 44) nécessitait de mettre au point et d'optimiser les méthodes de reconstruction existantes. Ces méthodes, sur lesquelles j'ai apporté ma contribution afin qu'elles puissent être utilisées, étaient basées sur deux types d'approches [FCI: 22]. La première prenait en compte les conditions géométriques particulières de l'imagerie pénombre. Il s'agissait d'une version améliorée du filtre de Nugent. La deuxième approche utilisait une variante du filtre de Wiener, le pseudo filtre de Wiener.

J'ai ensuite développé des méthodes mathématiques basées sur de nouveaux schémas qui, avec le gain en sensibilité obtenu sur la deuxième version du dispositif d'imagerie, ont permis d'améliorer la résolution spatiale.

Le premier prend en compte le processus de détection et utilise une transformation homomorphique associée à un pseudo filtre de Wiener.

Le deuxième utilise l'analyse multirésolution. Les algorithmes de reconstruction associés à ce schéma sont de deux types :

- 1- Filtre de Wiener adaptatif [FCI: 28, 29] où la fréquence de coupure du filtre est ajustée localement à partir de la valeur du rapport signal sur bruit spectral. L'analyse multirésolution a, dans ce cas, été utilisée pour évaluer localement le rapport signal sur bruit spectral.
- 2- Algorithme de Richardson-Lucy [FCI: 31, 32, 33] avec débruitage simultané par multirésolution.

Ces deux nouveaux schémas de reconstruction d'image constituent une grande partie de mon travail.

IV-2-1 Les méthodes existantes

IV-2-1-1 Le filtre de Nugent

La condition géométrique de l'imagerie pénombre est telle que le diamètre de l'image de l'ouverture D_1 est supérieur au diamètre de l'image de l'objet fournie par l'imagerie sténopé T_1 .

$$D_1 > T_1 \quad (87)$$

La réponse impulsionnelle A du diaphragme utilisé étant circulaire, sa transformée de Fourier $TF(A)$ est une fonction de Bessel du premier ordre dont on connaît la position des passages à zéro.

De ces deux résultats, on déduit deux propriétés (cf. Annexe F) [FCI: 34] :

- 1) La position du premier zéro de la transformée de Fourier de l'image brute $TF(I)$ coïncide avec la position du premier zéro de $TF(A)$.
- 2) $TF(A)$ est une fonction dont les extrémas sont équidistants de $1/D_1$. L'objet O ayant une étendue spatiale T_1 , d'après le théorème d'échantillonnage de Shannon, le

pas en fréquence nécessaire pour échantillonner la transformée de Fourier de l'objet $TF(O)$ est tel que :

$$dk = \frac{1}{D_1} < \frac{1}{T_1} \quad (88)$$

En effet, d'après le théorème d'échantillonnage, l'image de l'objet O ayant une étendue spatiale T_1 , il faut un pas en fréquence $dk \leq 1/T_1$ pour échantillonner sa transformée de Fourier $TF(O)$.

Des deux propriétés précédentes, on déduit [FCI: 34]:

- 1) $TF(O)$ peut être obtenue par filtrage inverse sur la seule connaissance des extrémas de $TF(A)$ et de leurs voisinages. Ce résultat est particulièrement intéressant car en ne filtrant que sur les extrémas de $TF(A)$ ou de leurs voisinages, on évite de filtrer par des valeurs trop faibles du filtre, ce qui aurait tendance à bruyier le spectre reconstruit de $TF(O)$.
- 2) Le rayon de la réponse impulsionnelle du système est directement déduit de la position du premier zéro de $TF(I)$.

Le spectre de l'image filtrée est calculé sur des couronnes équidistantes de $1/D_1$, et on obtient ainsi une première estimation de l'image de l'objet. Cette première estimation est ensuite améliorée au moyen d'une méthode de Gerchberg par interpolation du spectre de l'objet en dehors des couronnes et application des contraintes de support et de positivité sur l'image reconstruite. (cf Annexe F)

Un gros avantage de cette méthode est qu'elle ne nécessite pas de connaissance a priori sur la réponse impulsionnelle du système. En revanche, elle nécessite un bon rapport signal sur bruit.

IV-2-1-2 Le pseudo filtre de Wiener (Wiener paramétrique)

Le problème est d'accéder à l'un des termes O d'un produit de convolution connu, connaissant l'autre A . Si I représente ce produit de convolution, on a donc :

$$I = O * A \quad (89)$$

A représente dans notre cas la fonction de transfert de l'ouverture et $*$ l'opérateur de convolution. Le principe consiste à convoluer I par une fonction D telle que :

$$A * D = \delta \quad (90)$$

δ étant la fonction Dirac.

Et ceci nous amène à :

$$O = I * D \quad (91)$$

Compte tenu des propriétés élémentaires des fonctions de Dirac, on a :

$$TF(A).TF(D) = 1 \quad (92)$$

Malheureusement dans notre cas, $TF(A)$ présente des zéros. On ne pourra donc jamais déduire $TF(D)$ de la relation précédente. De plus, en dehors de ces points particuliers qui pourront toujours être considérés de mesure nulle, il existe un

domaine au voisinage de ces points où $TF(A)$ est très faible, si faible que les fluctuations pourront y être supérieures au signal. De ce fait, amplifier ces fréquences faiblement codées ne conduit qu'à amplifier les fluctuations. La solution proposée pour le traitement est : « d'amplifier les fréquences qui ont été atténuées mais qui restent supérieures au niveau des fluctuations et atténuer les autres ». C'est en ce sens que le filtre considéré est un pseudo-filtre de Wiener [FCI: 22] dont la fonction caractéristique est :

$$W(\nu) = \frac{TF^*(A)}{|TF(A)|^2 + \varepsilon} \quad (93)$$

ε est la fréquence de coupure du filtre et le symbole * représente le conjugué et ν la fréquence. La méthode peut se résumer ainsi : certaines fréquences ne sont pas prises en compte et certaines bandes étroites au voisinage de ces fréquences sont effectivement prises en compte, mais seulement celles qui correspondent à un signal inférieur aux fluctuations statistiques.

Un tel filtre a cependant des inconvénients :

- 1) La fréquence de coupure est supposée constante sur toute l'image
 - A certains endroits de l'image, le niveau de bruit est surestimé, la fréquence de coupure est trop basse et la résolution spatiale est dégradée.
 - A d'autres endroits, le bruit est sous-estimé, la fréquence de coupure est trop haute et le signal est bruité.
- 2) C'est un filtre passe bas. Les contours sont rendus flous par ce type de filtre.

IV-2-2 Les méthodes développées

Il a été montré précédemment (voir partie III, paragraphe 2.4.3 équation 34) que le signal original de la source était fortement dégradé par du bruit multiplicatif dépendant du signal. Les limitations des méthodes présentées dans les paragraphes précédents proviennent qu'elles ne tiennent pas compte du modèle de bruit présent dans les images expérimentales. Le filtre de Nugent ne donnera des résultats satisfaisants que pour des rapports signal sur bruit élevés, le filtre de Wiener, quant à lui, n'est vraiment efficace qu'en présence de bruit additif. J'ai développé plusieurs méthodes pour palier aux limitations présentées par ces deux méthodes.

IV-2-2-1 Le filtre de Wiener homomorphique

La première idée a été d'employer une transformation permettant de rendre le bruit additif, autorisant ainsi l'utilisation d'un pseudo filtre de Wiener. La transformation inverse est ensuite appliquée au résultat du filtrage de Wiener [FCI: 23, 24, 35, 36]. On a d'après l'équation 34 en négligeant le terme en k^2 :

$$r = s + k\sqrt{s}N(0,1) \approx \left(\sqrt{s} + \frac{k}{2}N(0,1) \right)^2 \quad (94)$$

expression dans laquelle, r est le nombre moyen d'évènements enregistrés par élément de résolution du détecteur, s le nombre moyen d'évènements détectés par élément de résolution du détecteur, $N(0,1)$ une loi normale centrée réduite de moyenne nulle et de variance égale à 1, et k un paramètre qui est égale à 1 si on prend

en compte uniquement le processus de détection, ou supérieur à 1, si on tient compte en plus de la conversion neutron-photon (paragraphe 2.4. 3 de la partie III). En prenant la racine carrée, le bruit devient additif et indépendant du signal :

$$\sqrt{r} \approx \sqrt{s} + \frac{k}{2}n \quad (95)$$

Le pseudo filtre de Wiener peut être appliqué à \sqrt{r} , l'image obtenue est ensuite élevée au carré.

IV-2-2-2 Le filtre de Wiener adaptatif

Une autre alternative est d'utiliser un filtre de Wiener dans lequel la fréquence de coupure sera localement ajustée en fonction de la valeur du rapport signal sur bruit spectral [FCI: 28, 29, 36]. Si on garde les notations de l'équation 93, l'expression de ce filtre de Wiener adaptatif est donnée par :

$$W_{\varepsilon}(v) = \frac{TF^*(A)}{E + \varepsilon(v)} \quad (96)$$

avec $E = |TF(A)|^2$

dans laquelle v représente la fréquence et ε la fréquence de coupure.

- Calcul du rapport signal sur bruit

Le rapport signal sur bruit est calculé à partir d'une estimation du signal débruité (équation 94). L'expression du rapport signal sur bruit spectral dans le domaine de Fourier peut s'écrire [FCI: 28]:

$$SNR(v) = \frac{|S(v)|}{|R(v) - S(v)|} \quad (97)$$

où R et S représentent respectivement les transformées de Fourier de r (signal enregistré bruité) et s (signal détecté non bruité).

Une estimation du signal non dégradé a été obtenue à partir de l'algorithme de DONOHO [FCI: 37]. L'algorithme se compose de trois étapes :

- Appliquer une décomposition en ondelettes au signal brut r .
- Appliquer un seuillage non linéaire des coefficients en ondelettes w_k avec une valeur de seuil τ_j dépendant du niveau de résolution courant j :

$$t(w_k) = w_k - \tau_j \text{sign}(w_k)$$

avec $\tau_j = 2\sigma \cdot 2^{J-j/2} \cdot \sqrt{2 \log N}$ (98)

Où t est la fonction de seuillage, J le niveau de résolution le plus fin, σ la variance du bruit et N le nombre total de pixels de l'image brute.

- Appliquer la décomposition inverse en ondelettes pour obtenir une estimation de s . C'est parce que l'efficacité de l'algorithme de DONOHO a été prouvée pour des bruits Gaussiens, que nous avons appliqué au signal brut r une transformation de stabilisation de variance, de telle sorte que le signal issu de cette transformation r'

puisse être assimilé à un signal Gaussien de variance égale à 1. L'expression du signal transformé peut s'écrire :

$$r' = 2\sqrt{r+1/4} \quad (99)$$

Le seuillage non linéaire est ensuite appliqué à r' , puis la transformation inverse de l'équation 99 fournit une estimation du signal non dégradé s .

Le rapport signal sur bruit spectral est ensuite obtenu à l'aide de l'équation 97.

- Ajustement de la fréquence de coupure ε du filtre

Le pseudo filtre de Wiener tel qu'il est défini dans l'équation 93 redresse et amplifie les fréquences f pour lesquelles $E(v) = |TF(A)|^2 > \varepsilon$ et il est donc nécessaire, pour ne pas introduire trop de bruit dans l'image, que pour ces fréquences le signal soit supérieur au bruit. Une limite acceptable pour ce compromis est de n'amplifier que les fréquences pour lesquelles le rapport signal sur bruit spectral est supérieur à 1. J'ai ajusté la fréquence de coupure du filtre $\varepsilon(v)$ est ajustée suivant le tableau suivant dépendant de $SNR(v)$ et $E(v)$:

$SNR(v)$ $E(v)$	$SNR(v) \geq 1$	$SNR(v) < 1$
$E(v) = \varepsilon_M$	$\varepsilon(v) = E(v)/SNR(v)^2$	$\varepsilon(v) = \varepsilon_M$
$E(v) < \varepsilon_M$	$\varepsilon(v) = \sup[\varepsilon_M, E(v)/SNR(v)^2]$	

Tableau dans lequel $\varepsilon_M = \sup_{SNR < 1}[E(v)]$ est la borne inférieure de la fréquence de coupure. ε_M est choisie de telle sorte que la taille minimum de source reconstruite par W_ε soit la plus proche possible de $\Delta s(J)$, la résolution spatiale optimum que permet d'atteindre la quantité d'information J (paragraphe 2.4.2 de la partie III). ε_M peut être interprété comme étant la borne supérieure de la fréquence de coupure.

Partout où le rapport signal sur bruit spectral $SNR(v)$ est plus petit que 1, $\varepsilon(v)$ est prépondérant sur $E(v)$ et aucune des fréquences spatiales de l'objet n'est reconstruite. Quand $SNR(v)$ est plus grand que 1 les fréquences spatiales reconstruites dépendent de la position relative de $E(v)$ et ε_M .

IV-2-2-3 Le filtre de Richardson-Lucy

- Principe général de l'algorithme de Richardson-Lucy

L'information contenue dans l'image objet est associée à la probabilité pour qu'un événement, à savoir dans notre cas, la réception d'un neutron provenant de la source, ait lieu en ce point de l'image. Dans l'image expérimentale I , cette information est ensuite distribuée en tenant compte de la répartition présente dans l'image de la réponse impulsionnelle de l'ouverture A [FCI: 31, 32].

Si on considère un point $O_{i,j}$ de l'image objet, d'après la démarche précédente, nous associons à ce point la probabilité $P[O_{i,j}]$. Le théorème du maximum de vraisemblance de Bayes nous donne alors la probabilité pour que l'évènement présent en $O_{i,j}$ soit retrouvé dans le point $I_{l,k}$ de l'image de pénombre:

$$P[O_{i,j}/I_{l,k}] = \frac{P[I_{l,k}/O_{i,j}]P[O_{i,j}]}{\sum_{m,n} P[I_{l,k}/O_{m,n}]P[O_{m,n}]} \quad (100)$$

$P[O_{i,j}]$ peut s'écrire en fonction des $P[O_{i,j}/I_{l,k}]$ et $P[I_{l,k}]$, l et k variant sur l'image pénombre:

$$P[O_{i,j}] = \sum_{l,k} P[O_{i,j}/I_{l,k}] \cdot P[I_{l,k}] \quad (101)$$

Donnant ainsi la nouvelle expression du théorème de Bayes:

$$P[O_{i,j}] = P[O_{i,j}] \sum_{l,k} \frac{P[I_{l,k}/O_{i,j}]P[I_{l,k}]}{\sum_{m,n} P[I_{l,k}/O_{m,n}]P[O_{m,n}]} \quad (102)$$

Il est alors possible de mettre en place une procédure itérative calculant $P[O_{i,j}]$. A l'itération n , on calcule $P_{n+1}[O_{i,j}]$:

$$P_{n+1}[O_{i,j}] = P_n[O_{i,j}] \sum_{l,k} \frac{P[I_{l,k}/O_{i,j}]P[I_{l,k}]}{\sum_{m,r} P[I_{l,k}/O_{m,r}]P[O_{m,r}]} \quad (103)$$

Richardson, dans son article, spécifie qu'il n'a pas pu démontrer la convergence de l'algorithme vers la solution souhaitée. Il n'a pu que vérifier cette convergence sur quelques exemples.

Ce n'est que plus tard que Lucy démontre la convergence dans le cas plus général d'une transformation quelconque de l'image objet [FCI: 31] sous réserve de certaines conditions de dérivabilité du Lagrangien de l'image I , sous la contrainte $\sum_{i,j} P[O_{i,j}] = 1$.

Ces conditions sont vérifiées dans le cas d'une transformation linéaire comme la convolution.

Le traitement itératif décrit précédemment peut s'écrire:

$$\hat{O}_n = \hat{O}_{n-1} \cdot \frac{A * I}{A \otimes \hat{O}_{n-1}} \quad (104)$$

Dans cette expression \otimes représente l'opérateur de corrélation de deux images, $*$ est l'opérateur de convolution et \hat{O}_{n-1} l'image objet reconstruite par l'algorithme à l'itération $(n-1)$.

- Limitations de l'algorithme

L'algorithme de Richardson-Lucy permet de reconstruire des images obtenues par convolution avec la réponse impulsionnelle de l'ouverture. Cependant un tel algorithme est très sensible au bruit présent dans l'image de pénombre, et particulièrement au bruit causé par les neutrons diffusés à travers le matériau constitutif de l'ouverture. Il est donc intéressant de mettre au point un nouvel algorithme basé sur le même principe et introduisant simultanément un débruitage de l'image pénombre.

- Algorithme de Richardson-Lucy avec débruitage simultané par analyse multirésolution

Dans l'algorithme de Richardson-Lucy présenté précédemment, le résultat obtenu après chaque itération est une estimation de l'objet reconstruit. On introduit, à ce niveau de l'algorithme, une image E_{n-1} de l'erreur faite sur la reconstruction de l'image pénombre [FCI: 33]. E_{n-1} est définie comme la différence entre l'image de pénombre originale I et une image de pénombre obtenue par convolution de \hat{O}_{n-1} avec l'image de la réponse impulsionnelle A du diaphragme :

$$E_{n-1} = I - A * \hat{O}_{n-1} \quad (105)$$

Le débruitage de l'image E_{n-1} a été réalisé en utilisant l'algorithme de seuillage non linéaire de Donoho présenté précédemment. Après élimination du bruit par cette méthode, on obtient l'image E'_{n-1} . Afin d'introduire ce débruitage dans l'algorithme de Richardson-Lucy, on introduit l'image I'_n déduite de I et E'_{n-1} :

$$I'_n = E'_{n-1} + A * \hat{O}_{n-1} \quad (106)$$

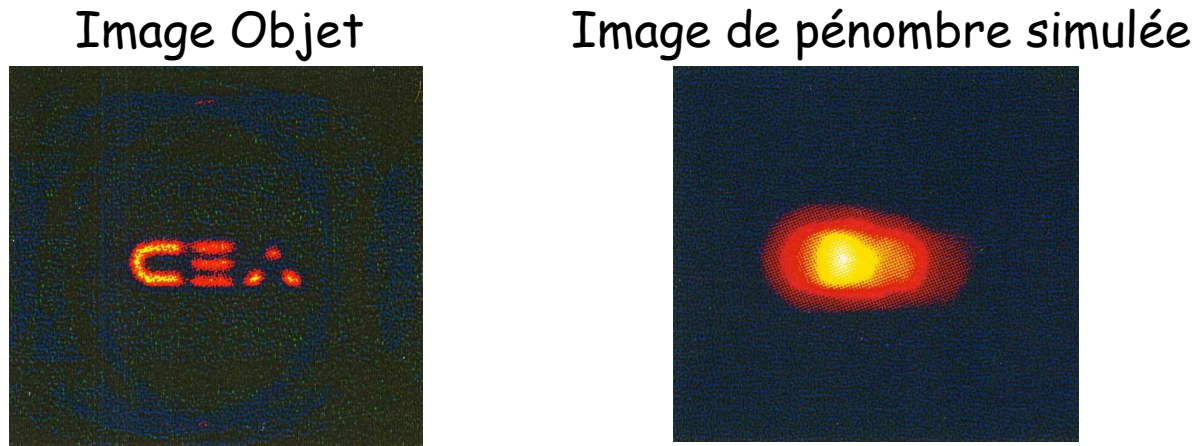
L'itération n de l'algorithme de Richardson-Lucy peut s'écrire :

$$\hat{O}_n = \hat{O}_{n-1} \cdot \frac{A * I'_n}{A \otimes \hat{O}_{n-1}} \quad (107)$$

IV-3 Comparaison des différentes méthodes et validité des résultats

IV-3-1 Comparaison des méthodes de reconstruction

Pour comparer les différentes méthodes décrites précédemment, nous les avons testées d'abord sur un objet connu montrant les initiales du CEA. L'image de l'objet original est représenté figure 69. C'est le résultat de la déconvolution d'une image gammagraphique obtenue par ouverture codée. Cette image a été convoluée avec la réponse impulsionnelle d'une ouverture de grand diamètre, puis dégradée selon le modèle représenté par l'équation 31 (paragraphe 3-4-2 de la partie III) avec $k=1.5$. L'image résultante est représentée figure 69.



$$I = O * A + 1.5\sqrt{O * A} n$$

Figure 69 : Image « CEA » et image simulée bruitée.

La figure 70 représente les résultats obtenus respectivement avec le filtre de Nugent et le filtre de Wiener homomorphique.

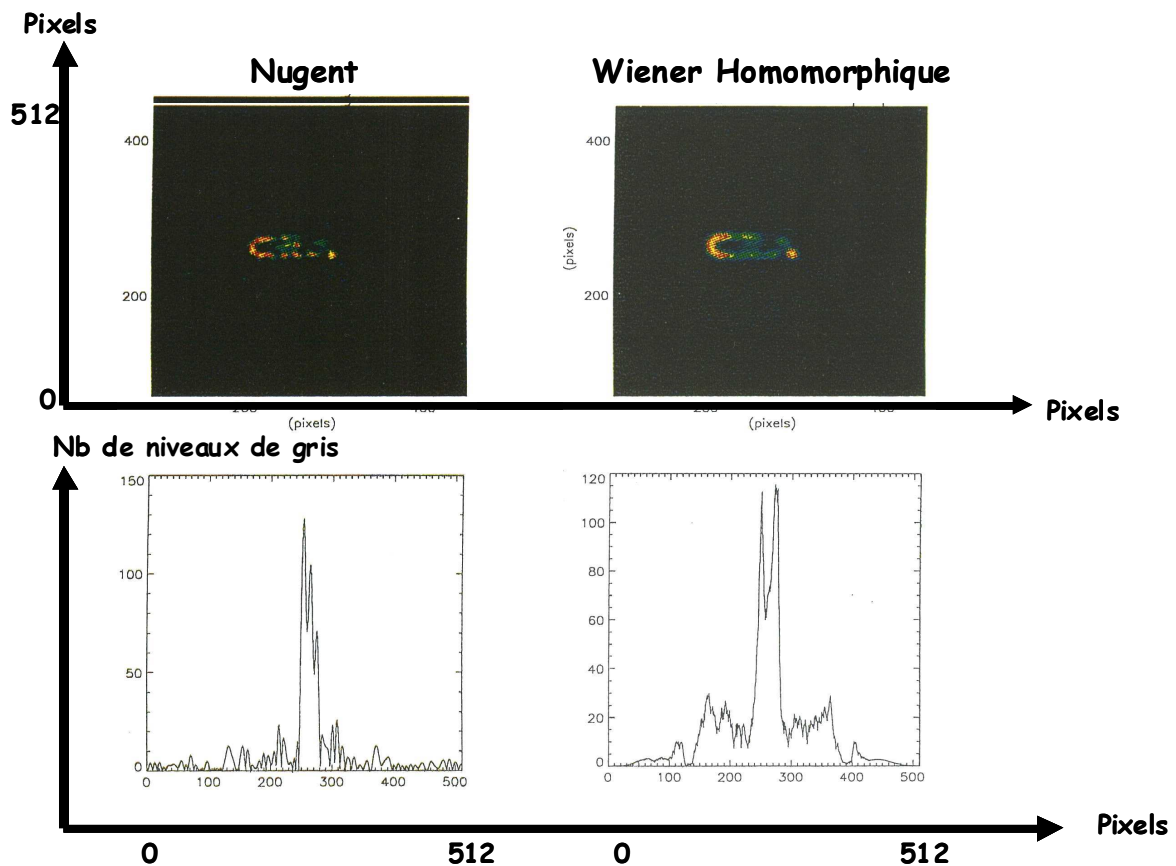


Figure 70 : Restitution du sigle CEA par les filtres de Nugent et Wiener homomorphique.

Les profils d'intensité représentés sur la figure 70 sont des profils verticaux pris sur la lettre E. Les intensités sont représentées dans une échelle de couleurs liée au nombre de niveaux de gris distingués dans l'image. On remarque que le filtre de Nugent détecte bien les trois barres de la lettre E mais que ces barres n'ont pas toutes la même intensité. Par contre, le filtre de Wiener homomorphique ne permet de détecter que deux barres, la barre du milieu étant pratiquement inexistante.

La figure 71 représente les résultats obtenus respectivement avec le filtre de Wiener adaptatif et le filtre de Richardson-Lucy avec débruitage simultané. Les profils d'intensité représentés ont été pris sur la lettre E, et l'échelle d'intensité est définie relativement au nombre d'évènements détectés. J'ai obtenu les résultats du filtre de Wiener adaptatif sur le site de Limeil, ceux concernant le filtre de Richardson-Lucy ont fait l'objet d'une collaboration avec le Centre d'Optique Photonique et Laser (COPL) de L'université Laval (Québec) et ont été obtenus sur place [FCI: 33]. Dans les deux cas, la restitution de la lettre E est satisfaisante. Le résultat correspondant au Wiener adaptatif montre que les trois barres du E ont pratiquement la même valeur et la définition de l'image semble meilleure.

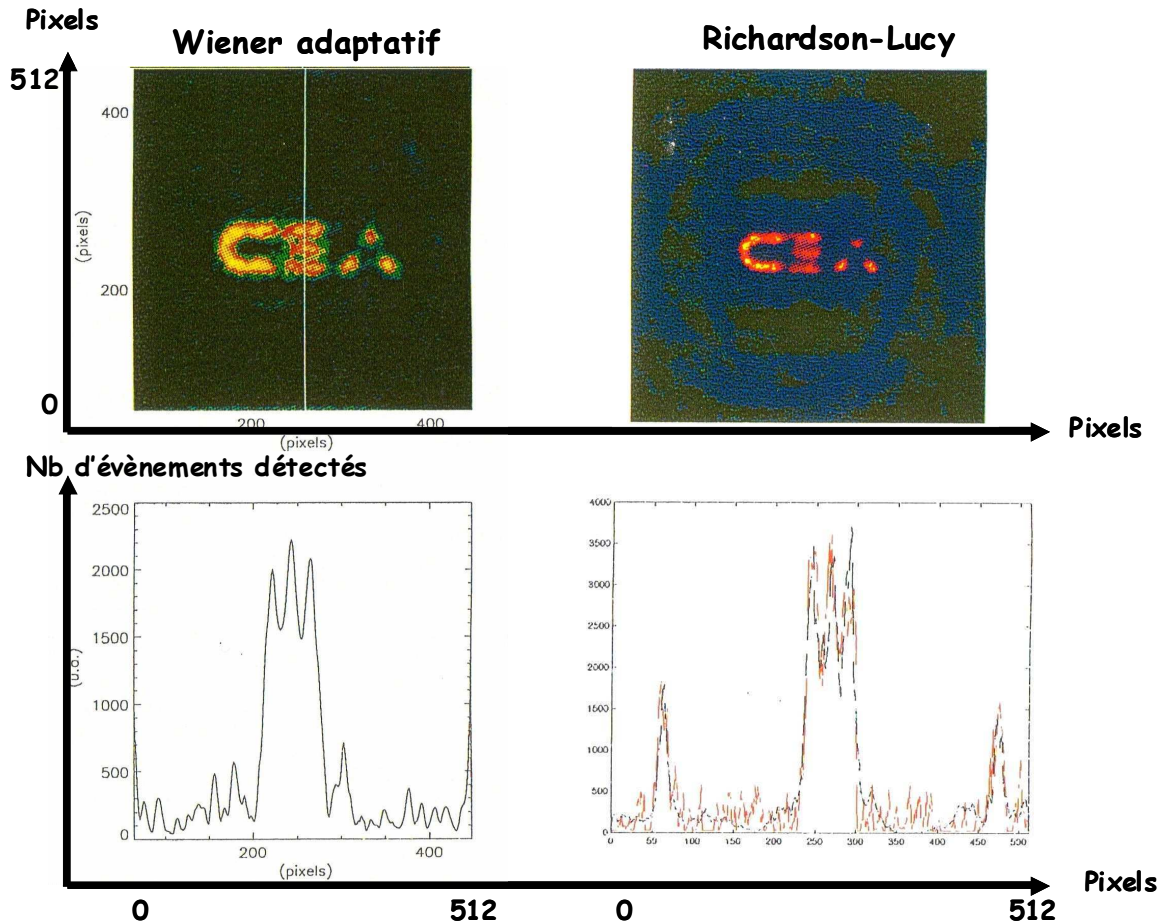


Figure 71 : Restitution du sigle CEA obtenue respectivement par le filtre de Wiener adaptatif et le filtre de Richardson-Lucy avec débruitage simultané.

IV-3-2 Application à l'imagerie neutronique

Le problème que l'on rencontre quand il s'agit d'appliquer à l'imagerie neutronique les méthodes de reconstruction précédemment décrites, est que, outre sa taille moyenne, peu de connaissance a priori sur la source (forme, distribution d'intensité...) n'est disponible (il n'existait pas à l'époque de code numérique de prévision de signaux spécifiques à l'imagerie neutronique) Pour valider les résultats obtenus sur l'installation Phébus, lors des campagnes de tirs en attaque directe et en attaque indirecte, nous avons utilisé le fait que, pour une fréquence de coupure donnée, il existe une taille minimum Δs_t en dessous de laquelle la source ne pourra pas être restituée de manière satisfaisante. Si D_{rec} représente la taille de la source restituée par la méthode de reconstruction utilisée, on choisira la méthode de reconstruction de telle sorte que l'écart ($D_{rec} - \Delta s_t$) soit minimum.

Pour déterminer Δs_t , on calcule en premier l'image résultant de la convolution d'une source de taille variable avec la réponse impulsionnelle de l'ouverture. On étudie ensuite la réponse du filtre utilisé.

L'inégalité suivante doit être respectée :

$$D_s < \Delta s_t \quad (108)$$

où D_s représente la taille estimée de la source.

Les méthodes de reconstruction décrites précédemment ont été appliquées à des images neutroniques obtenues sur l'installation Phébus à des flux neutroniques de 2.5

10^8 , $6.3 \cdot 10^8$ et $3.4 \cdot 10^9$ neutrons dans les 4π . Les figures 72, 73, 74 montrent les résultats obtenus pour les tirs mentionnés plus haut, respectivement avec les filtres de Nugent, Pseudo-Wiener (Wiener paramétrique) et Wiener homomorphique.

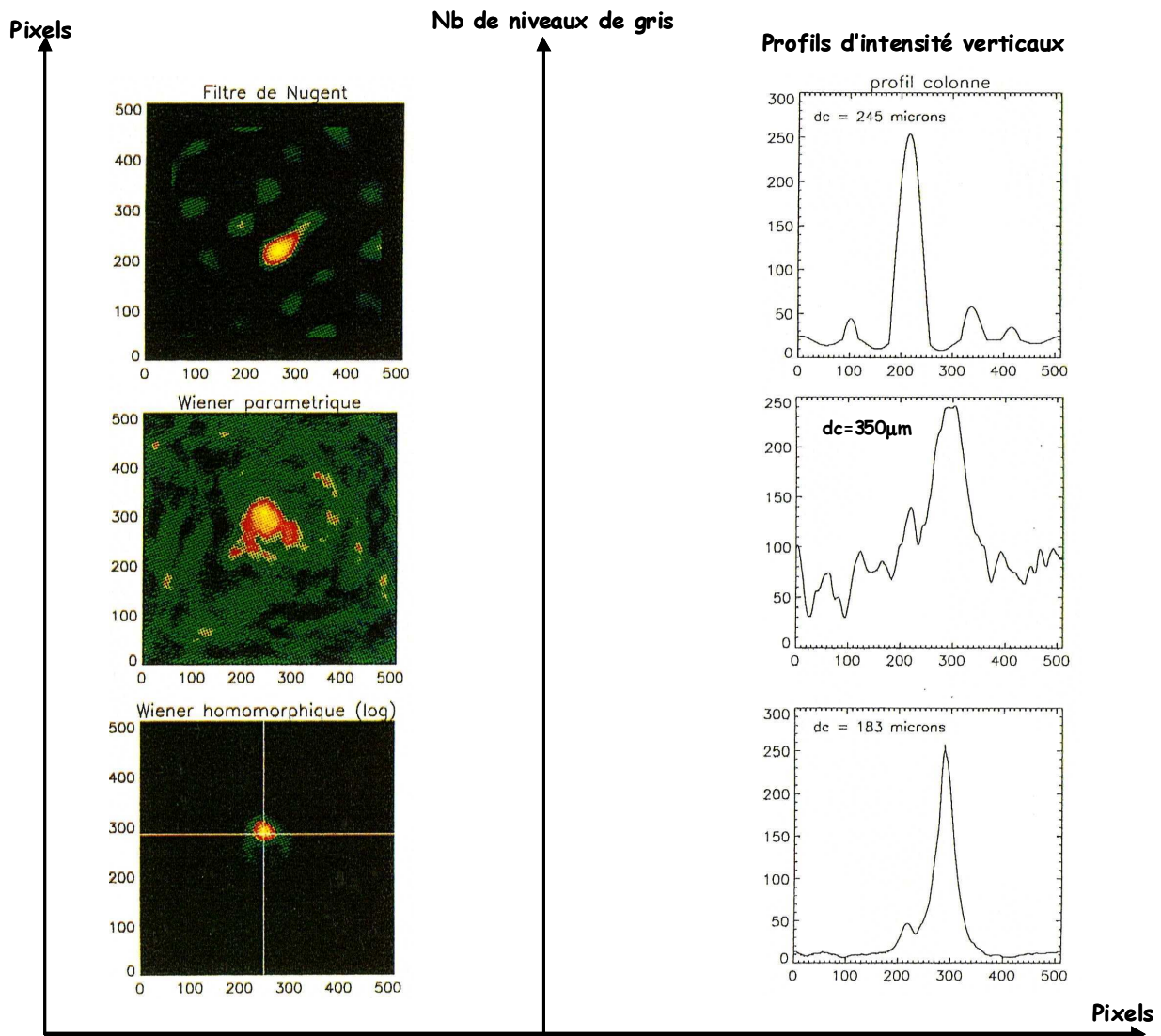


Figure 72 : $N_n=2.5 \cdot 10^8$ neutrons dans les 4π . Reconstitution de la source en utilisant les filtres de Nugent, Pseudo-filtre de Wiener (Wiener paramétrique), Wiener homomorphique. La taille minimum de source Δs_r pouvant être reconstruite est de 178 microns.

Dans le cas de la figure 72, les tailles de source restituées par les filtres de Nugent, Pseudo-Wiener (Wiener paramétrique) et Wiener homomorphique sont respectivement de 245, 350 et 183 μm . La taille de source restituée par le filtre de Wiener homomorphique est la plus proche de la taille minimum de source pouvant être reconstruite (178 μm). Ce type de filtre a permis aussi d'éliminer la totalité de bruit contrairement au filtre de Wiener paramétrique, ce qui prouve la nature du bruit qui est d'être multiplicatif et dépendant du signal.

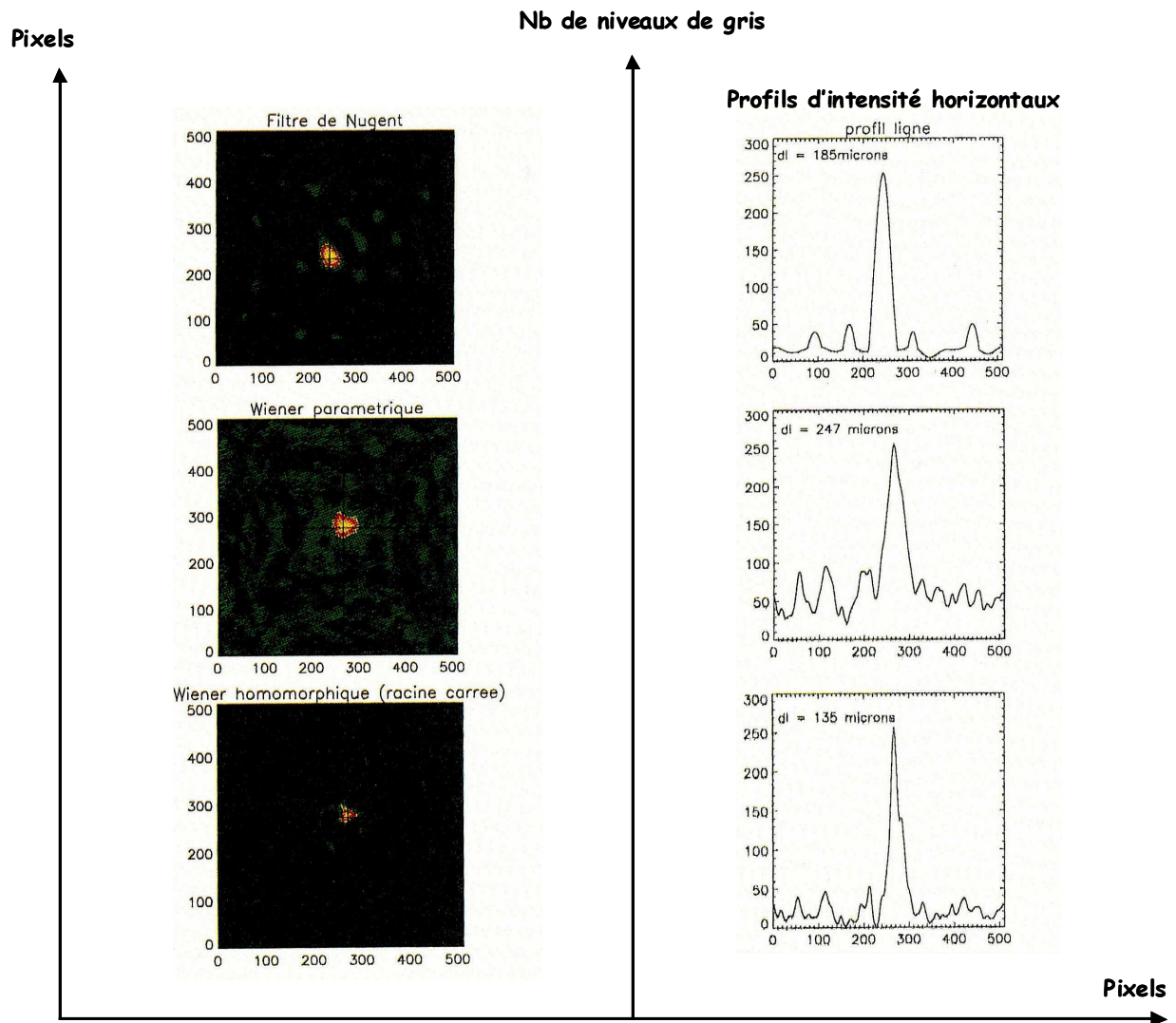


Figure 73 : $N_n=6.3 \cdot 10^8$ neutrons dans les 4π . Reconstruction de la source en utilisant les filtres de Nugent, Pseudo-filtre de Wiener (Wiener paramétrique), Wiener homomorphique. La taille minimum de source Δs_t pouvant être reconstruite est dans ce cas de 124 microns.

Dans le cas de la figure 73, les tailles de sources restituées par les filtres de Nugent, Pseudo-Wiener (Wiener paramétrique) et Wiener homomorphique sont respectivement de 185, 247 et 135 μm . Comme dans le cas de la figure précédente, le filtre de Wiener homomorphique a permis de restituer une taille de source la plus proche de la taille minimum de source pouvant être reconstruite (124 μm).

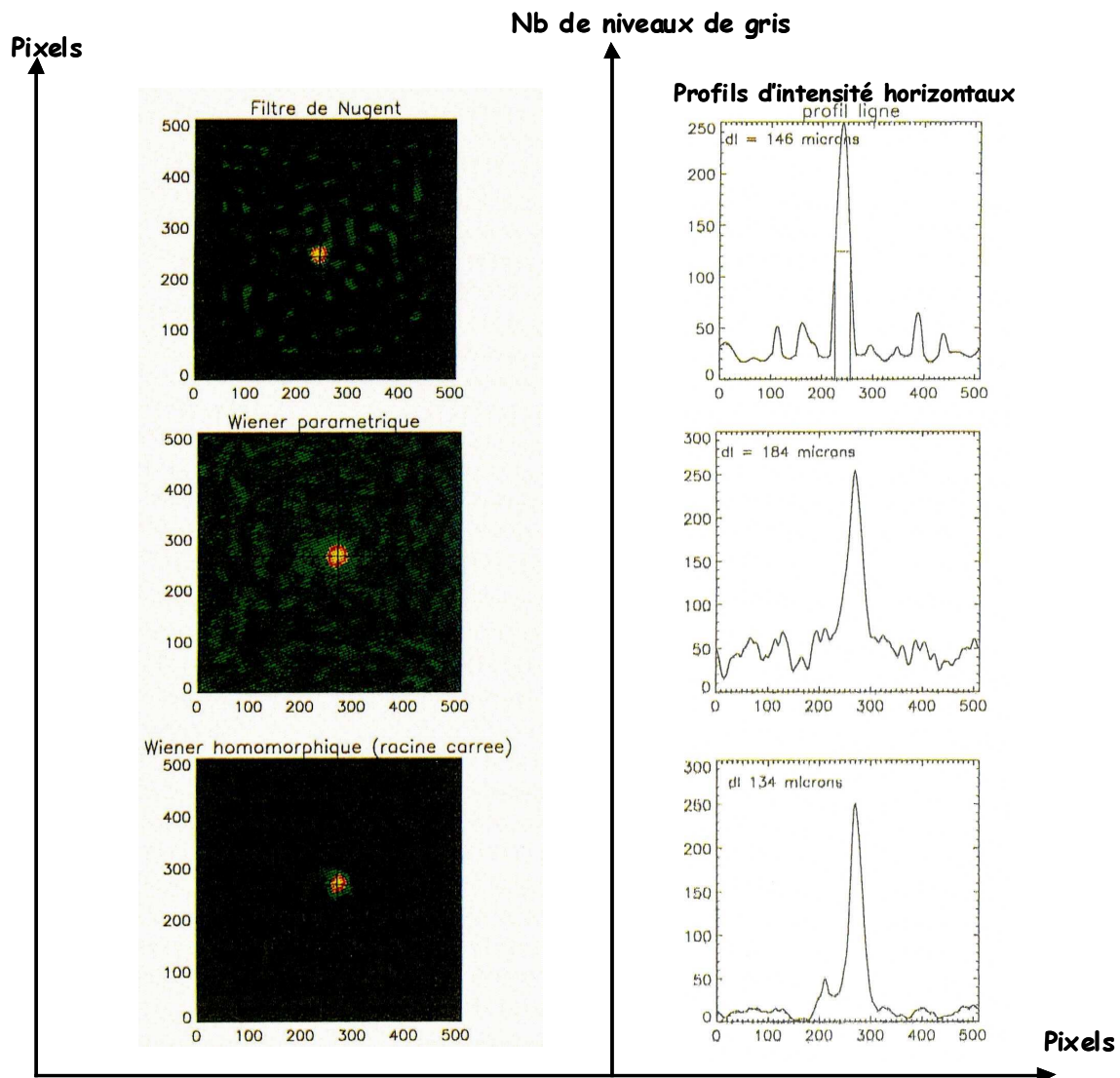


Figure 74 : $N_n = 3.4 \cdot 10^9$ neutrons dans les 4π . Reconstruction de la source en utilisant les filtres de Nugent, Pseudo-Wiener (Wiener paramétrique), Wiener homomorphique. La taille minimum de source Δs_t pouvant être reconstruite est dans ce cas de 103 microns.

Dans le cas de la figure 74, les tailles de sources restituées par les filtres de Nugent, Pseudo-filtre de Wiener (Wiener paramétrique) et Wiener homomorphique sont respectivement de 146, 184 et 134 μm . Comme dans les figures précédentes, le filtre de Wiener homomorphique permet de restituer une source dont la taille est la plus proche de la taille minimum de source pouvant être reconstruite (103 μm).

De même que les filtres de Nugent, Wiener paramétrique, Wiener homomorphique (figure 74), le filtre de Wiener adaptatif a été appliqué à l'image obtenue avec un flux de $3.4 \cdot 10^9$ neutrons dans les 4π . Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 75.

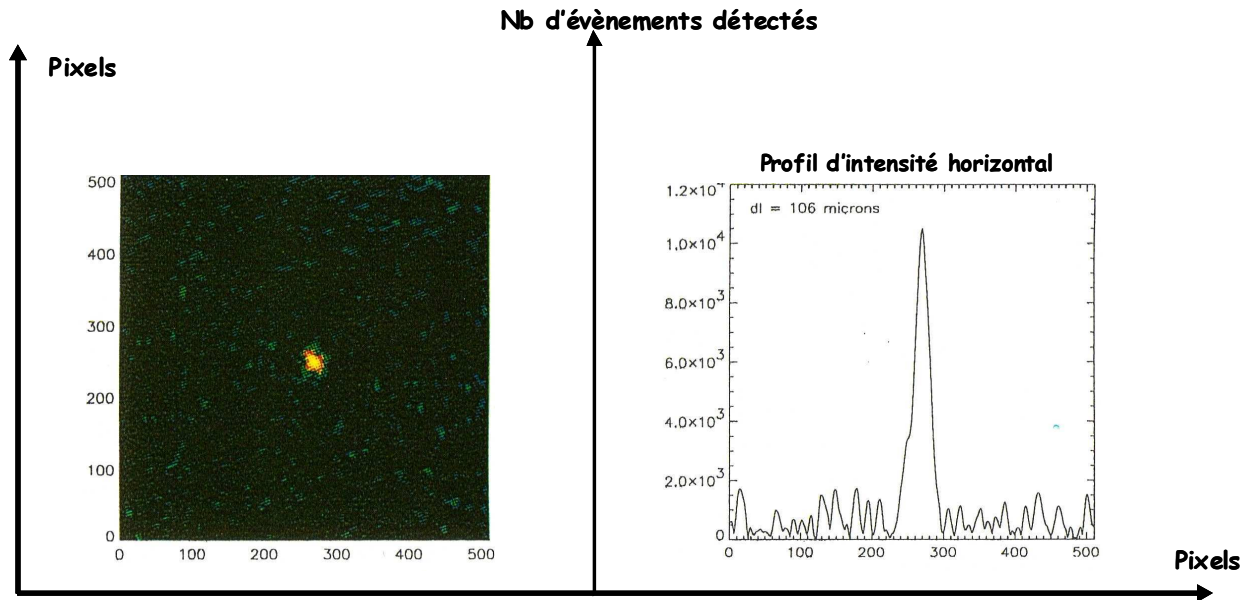


Figure 75 : $N_n = 3.4 \cdot 10^9$ neutrons dans les 4π . Reconstruction de la source en utilisant le filtre de Wiener adaptatif.

Le filtre de Wiener adaptatif a permis de restituer une taille de source ($106\mu\text{m}$) très proche de la taille minimum de source pouvant être reconstruite ($103\mu\text{m}$). L'image restituée est celle de plus grande confiance par rapport aux autres filtres utilisés.

IV-4 SIRINC : Un outil numérique d'aide à l'optimisation du diagnostic d'imagerie neutronique

IV-4-1 Objectifs

La résolution spatiale optimum que l'on peut espérer obtenir avec une technique d'imagerie de pénombre est la résolution géométrique Δs_g du dispositif expérimental. Atteindre la précision demandée par les physiciens nécessite à la fois des études technologiques concernant le dispositif expérimental et le développement de techniques numériques spécifiques de reconstructions d'images. La résolution spatiale optimum fournie par le dispositif expérimental Δs_{exp} dépend des performances de ce dernier et est supérieure à la résolution géométrique. Enfin la résolution spatiale effectivement obtenue dans l'objet reconstruit Δs est dégradée (dégradation due à l'erreur numérique commise par les techniques de reconstruction) et supérieure à Δs_{exp} .

$$\Delta s_g < \Delta s_{\text{exp}} < \Delta s \quad (109)$$

L'écart entre Δs et Δs_{exp} dépend de la méthode de reconstruction utilisée, l'écart entre Δs_{exp} et Δs_g dépend des performances du dispositif expérimental en termes de contraste, rapport signal sur bruit et quantité d'information.

Les objectifs visés par le code SIRINC (Simulation and Reconstruction Imaging Neutron Code) [FCI: 28] que j'ai développé, sont d'une part, d'optimiser les performances de la chaîne de mesure, c'est-à-dire diminuer l'écart entre Δs_g et Δs_{exp} , d'autre part, de mettre au point et optimiser les techniques de reconstruction de la source de telle sorte que l'écart entre Δs_{exp} et Δs soit minimum.

L'optimisation des performances de la chaîne de mesure nécessite de résoudre le problème direct, c'est-à-dire de modéliser les phénomènes physiques contribuant à la formation de l'image et à sa dégradation. L'objectif est de calculer le plus fidèlement possible l'image I_{calc} fournie par le dispositif expérimental à partir d'une source prévisionnelle S_p . Cette partie de SIRINC va permettre de tester de nouveaux types d'ouverture et de détecteurs.

La résolution du problème inverse va nécessiter la mise au point de techniques spécifiques de reconstruction avec pour objectif principal de calculer une estimation de la source \hat{S} la plus proche possible de la source prévisionnelle du départ S_p à partir d'une image expérimentale réelle ou calculée.

Le fonctionnement de SIRINC peut se représenter dans le diagramme ci-dessous :

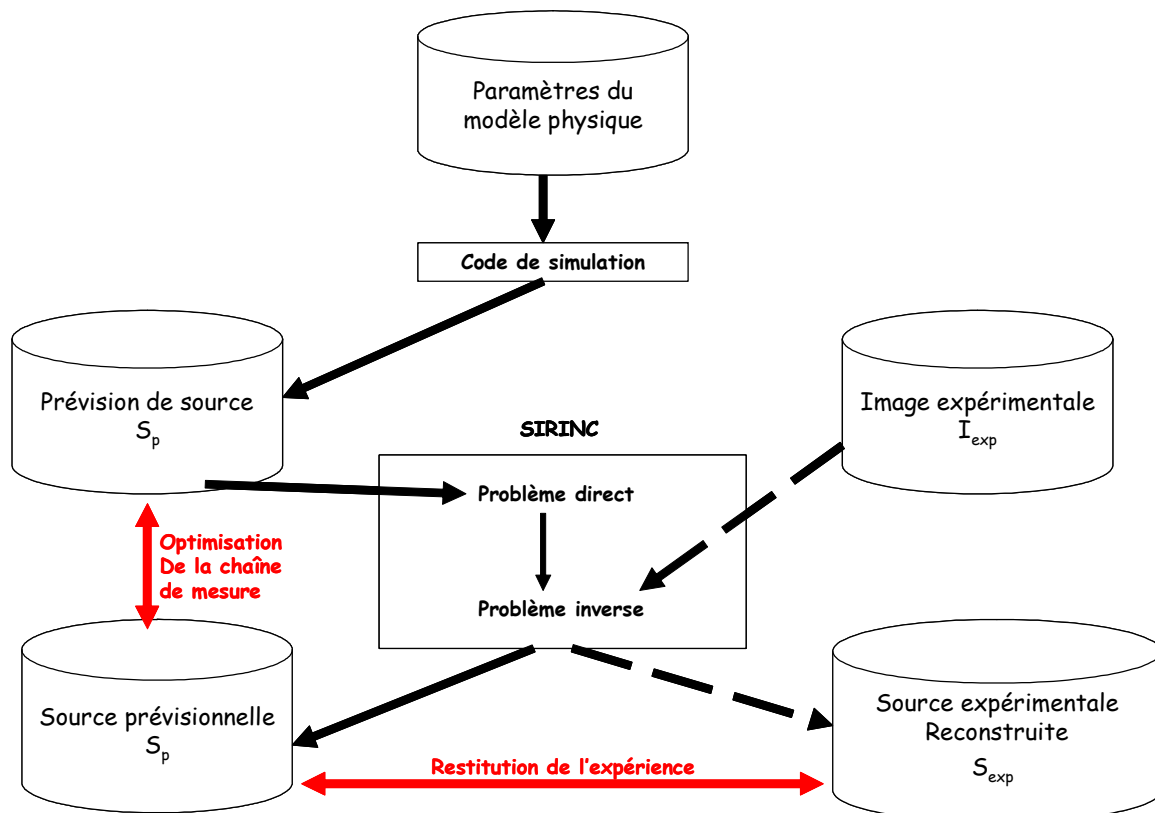


Figure 76 : Organisation du code SIRINC

IV-4-2 Description et limitations de la version actuelle

La version actuelle du logiciel comporte deux modules :

a- Le premier module (problème direct) calcule l'image expérimentale à partir d'une prévision de source S_p obtenue à l'aide d'un code de simulation ou d'une source test fournie par le code lui même. Cette source est convoluée avec la fonction de transfert de l'ouverture, le bruit de détection est simulé en dégradant l'image ainsi obtenue à l'aide du modèle décrit précédemment (équation 34). Les sources test fournies par le logiciel sont typiquement des sources circulaires de différents diamètres, avec une ou deux gaussiennes à l'intérieur représentant d'éventuels points chauds et dont les intensités et tailles sont définies par l'utilisateur.

b- Le deuxième module (problème inverse) reconstruit la source et estime la résolution spatiale optimum que l'on peut espérer atteindre compte tenu de la

quantité d'information contenue dans l'image de mesure. La reconstruction de la source est réalisée à l'aide d'un filtre de Wiener adaptatif dans lequel la fréquence de coupure est ajustée localement en fonction du rapport signal sur bruit spectral. Le calcul du rapport signal sur bruit spectral se compose de deux étapes :

- i- Calcul du signal s corrigé du bruit de détection à partir du signal mesuré r , en utilisant une décomposition en ondelettes de r suivie d'un seuillage non linéaire des coefficients d'ondelettes.
- ii- Calcul du rapport signal sur bruit spectral SNR :

$$SNR = |S| / |R - S| \quad (110)$$

où R et S représente respectivement les transformées de Fourier de r et de s .
 $||$ représente le module.

IV-4-3 Résultats obtenus

La première version de SIRINC a été utilisée d'abord sur des images test produites par le code lui-même, pour évaluer les performances et les limites du module de reconstruction. Puis il a servi au traitement d'images expérimentales obtenues sur OMEGA (LLE).

IV-4-3-1 Résultats obtenus sur des images tests

Les résultats obtenus sur des images tests sont représentés figures 77 et 78.

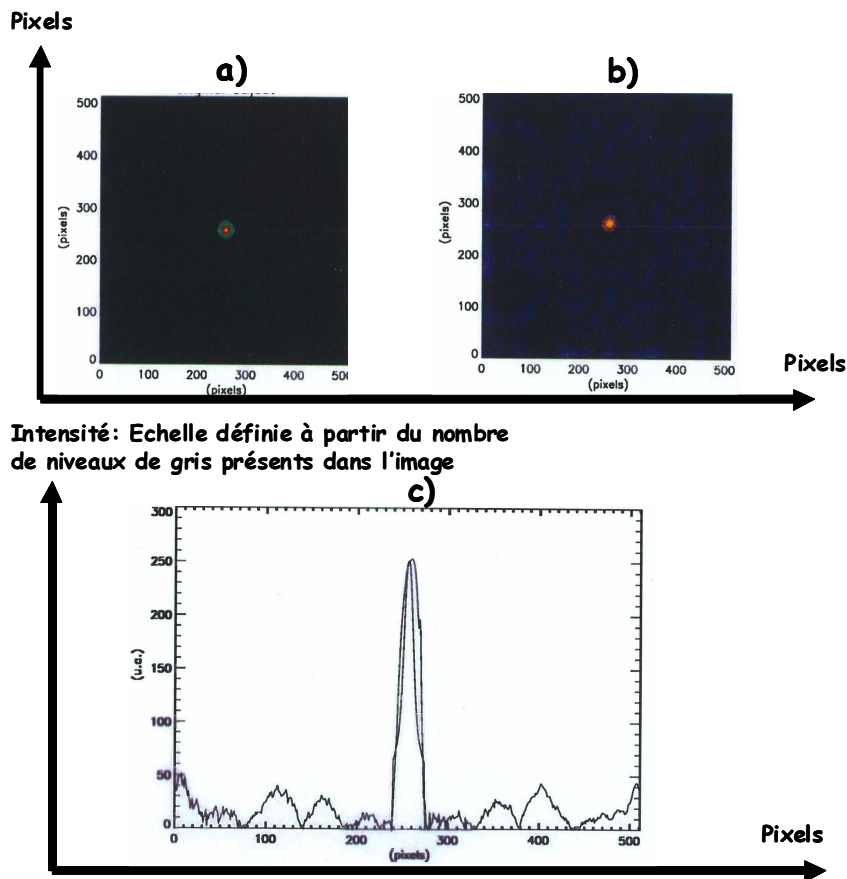


Figure 77 : $N_n = 10^{14}$ neutrons. Reconstruction d'une source de 100 microns de diamètre contenant une gaussienne de 30 microns. (a) représente l'image test de départ, (b) l'image reconstruite, (c) contient la superposition des profils d'intensités issus de l'image de départ et de l'image reconstruite.

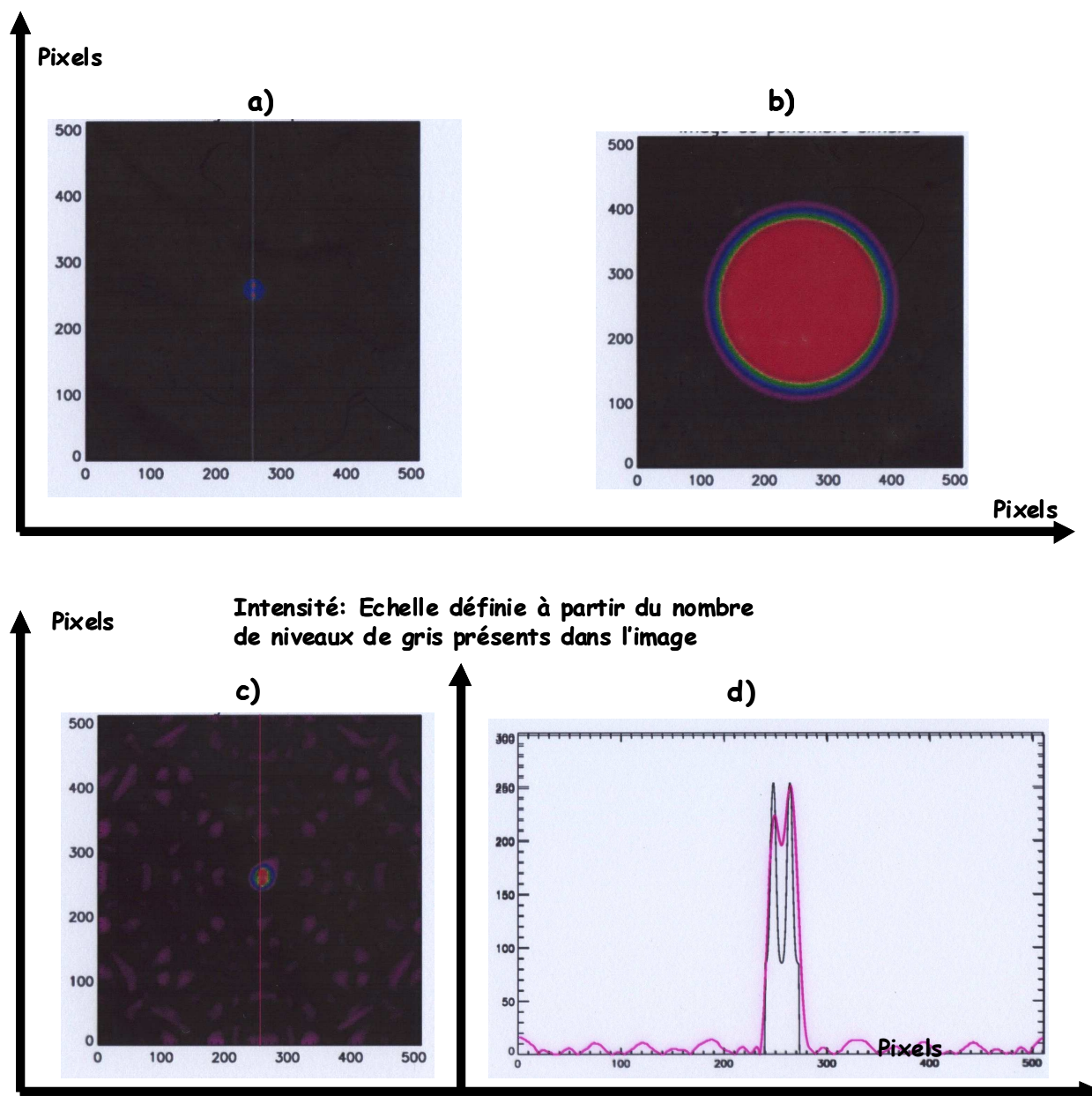


Figure 78 : Reconstruction d'une source de 100 microns contenant deux gaussiennes identiques, de 15 microns de largeur, espacées de 35 microns pour un flux de neutrons de 10^{14} neutrons dans les 4π . (a) représente l'image de départ, (b) l'image de pénombre simulée, (c) l'image reconstruite et (d) est la superposition des profils d'intensités de l'image de départ (en noir) et de l'image reconstruite (en rose).

IV-4-3-2 Résultats obtenus sur des images expérimentales

- Schéma du dispositif d'imagerie neutronique installé à Rochester (2002).
Résultats obtenus sur OMEGA

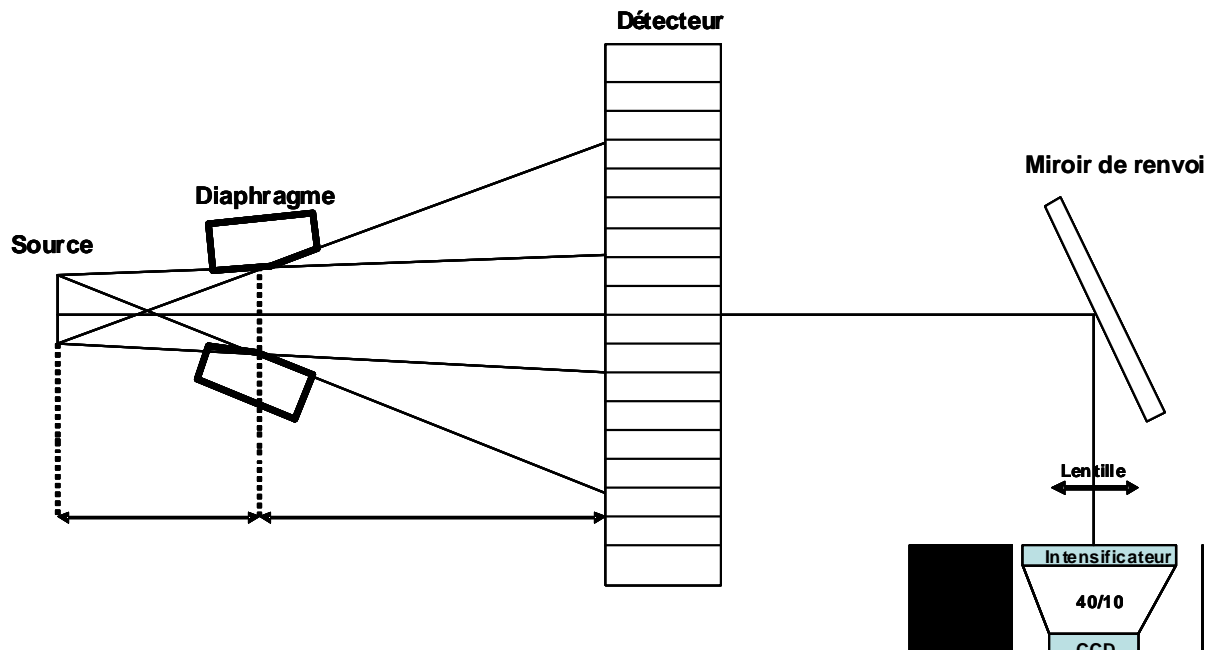


Figure 79 : Dispositif d'imagerie neutronique installé au LLE (Rochester).

Le dispositif d'imagerie figure 79 représente le dispositif d'imagerie neutronique de pénombre installé en 2002 à Rochester. Il était constitué d'un diaphragme, d'un scintillateur segmenté (détecteur), d'un miroir de renvoi, d'un objectif de reprise d'image, d'un intensificateur et d'un capteur CCD. La version actuelle du dispositif ne comporte plus de miroir de renvoi.

La distance source-centre diaphragme L_0 a été fixé à 8cm, la distance centre diaphragme-centre scintillateur L_i a été fixé à 800cm, de telle sorte que le grandissement du dispositif soit égal à 100.

Le diaphragme de forme biconique symétrique est en tungstène. Le diamètre d'entrée est de 0.60mm, le diamètre central est de 0.76mm, le diamètre de sortie est de 1.07mm et la longueur est de 50mm.

Le scintillateur de forme circulaire est composé de 8000 fibres en NE102 de 100mm de long et de 1.5mmx1.5mm de section, son diamètre extérieur est de 15 cm.

Le miroir de renvoi utilisé dans la version initiale du dispositif était en SiO₂. Son épaisseur était de 3.8cm, son diamètre de 26cm. Il était situé à 25cm du centre du scintillateur.

La caméra est composée d'un objectif de grandissement 0.26, d'un intensificateur d'image à simple galette de micro canaux, d'un cône réducteur 40/10 et d'un capteur CCD de 512x512 pixels de 19mm de coté, avec codage sur 12 bits. Le capteur CCD est placé à 76cm de l'axe du faisceau.

Pour un neutron source de 14 MeV, incident sur la face avant du scintillateur, le nombre de photons émis par bâtonnet, en sortie du scintillateur, a été estimé à l'aide du code MCNP à 580 photons. Le bilan photonique a été calculé à partir des spécifications techniques de l'intensificateur, du cône réducteur et du capteur CCD. Les photons sont transformés par le capteur CCD en électrons et le nombre d'électrons nécessaires pour générer un pas codeur dans l'image (1LSB) est de 140.

Pour un gain de 1 de l'intensificateur, le nombre de LSB par photon en sortie bâtonnet a été estimé à $1.05 \cdot 10^{-7}$ LSB.

Compte tenu des résultats précédents et pour une source émettant 10^{14} neutrons dans les 4π , située à 8m du scintillateur, le nombre de photons sortant d'un bâtonnet est égal à $1.5 \cdot 10^8$, soit $1.5 \cdot 10^8 \times 1.05 \cdot 10^{-7} \approx 20$ LSB. Sachant que pour un bon fonctionnement de la caméra le nombre moyen de LSB doit être voisin de 2000, le gain de l'intensificateur est fixé à 100 pour les expériences menées à OMEGA.

La figure 80 représente les résultats obtenus sur le scintillateur de l'installation OMEGA pour un tir de $3 \cdot 10^{13}$ neutrons dans les 4π .

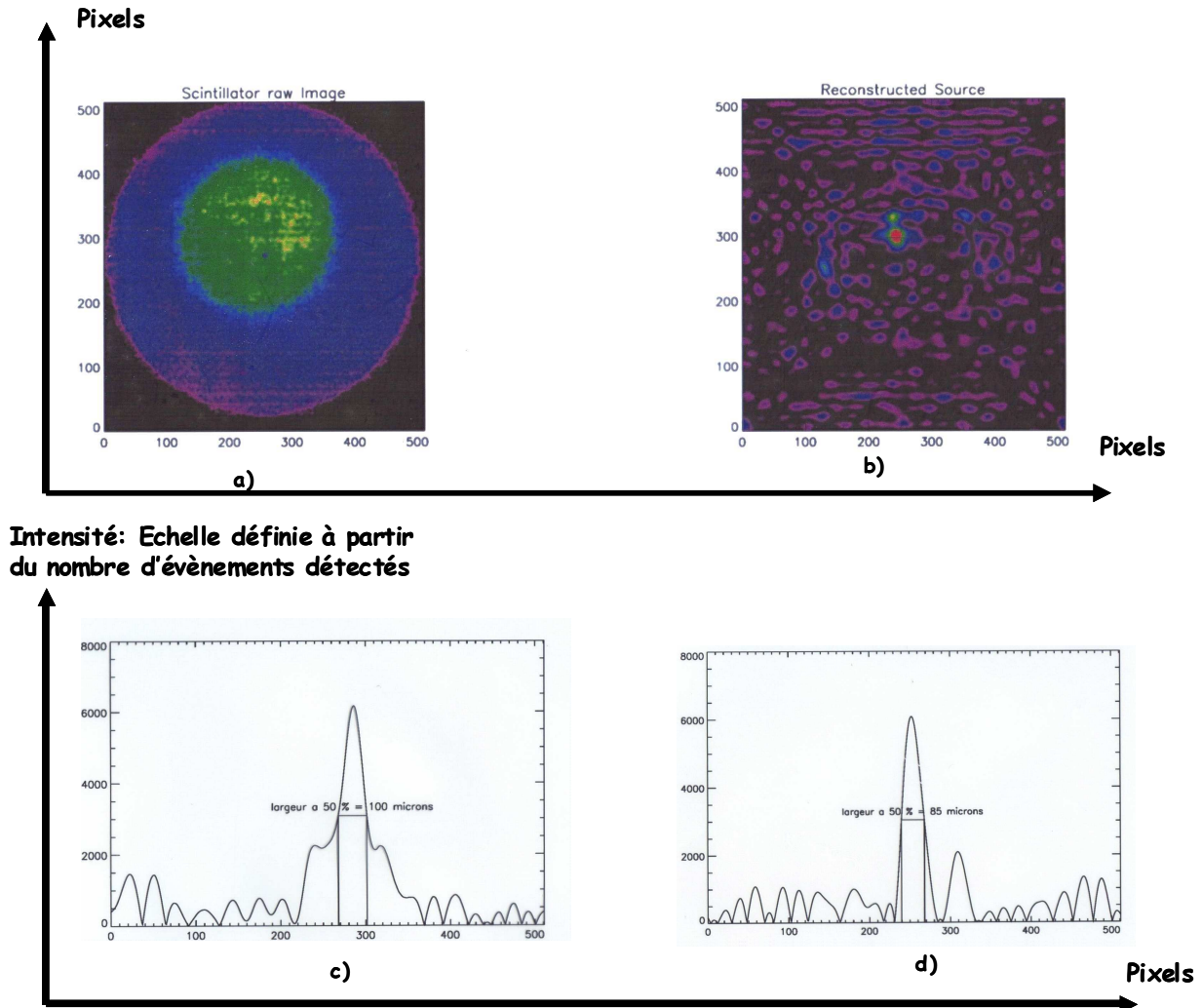


Figure 80 : Résultats obtenus sur l'installation OMEGA avec un tir de $3 \cdot 10^{13}$ neutrons dans les 4π . (a) représente l'image brute. (b) représente l'image reconstruite. (c) et (d) sont des profils horizontaux et verticaux de la source reconstruite. La taille de source estimée est de 100/85 microns. La résolution spatiale estimée est de 47.5 microns.

- Principe du détecteur à bulles- résultats obtenus sur OMEGA

Les détecteurs à bulles utilisés sur l'installation OMEGA et commercialisés par « Bubble Technology Industries » (BTI, Ontario, Canada) [FCI: 30,31] se composent d'environ 100000 gouttelettes de $3\mu\text{m}$ de diamètre, d'un liquide chauffé à haute température. Les gouttelettes sont en suspension dans une matrice de support fabriquée à partir d'un gel en polymère élastique. Le liquide utilisé est du fréon. Les bulles se forment à partir de la diffusion élastique des neutrons sur les atomes de

fluorine et de Chlorine contenus dans le liquide. La formation de bulles nécessite qu'une quantité d'énergie minimum, dE/dx soit déposée à une distance très courte d de l'interaction d'un neutron sur un atome de Fluorine/Chlorine. Plus précisément, on doit avoir:

$$\frac{dE}{dx} \geq \frac{E_{\min}}{R_{\text{critique}}} \quad (111)$$

$$d > R_{\text{critique}}$$

La distance d sur laquelle doit être déposée l'énergie doit être supérieure à un rayon critique R_{critique} d'environ 10^{-5} cm. La quantité d'énergie dE/dx déposée sur la distance d doit être supérieure à un seuil de détection représenté par $E_{\min}/R_{\text{critique}}$ où E_{\min} dépend de la pression du liquide. Ainsi, un neutron incident sur le détecteur pourra induire la création d'une ou de zéro bulle, en fonction de la position de son énergie par rapport au seuil de détection. La distance maximum de dépôt d'énergie des neutrons est de $5\mu\text{m}$, et dans ce cas, l'expression de la résolution géométrique du dispositif peut s'écrire :

$$\Delta s_g = \frac{\Delta d_b}{G} \quad (112)$$

Δd_b représente la résolution du détecteur à bulles et G le grandissement du dispositif expérimental. La résolution optimum est d'environ $1\mu\text{m}$. La figure 81 montre les résultats obtenus pour un tir à OMEGA avec un flux de neutron de 6×10^{13} neutrons dans les 4π .

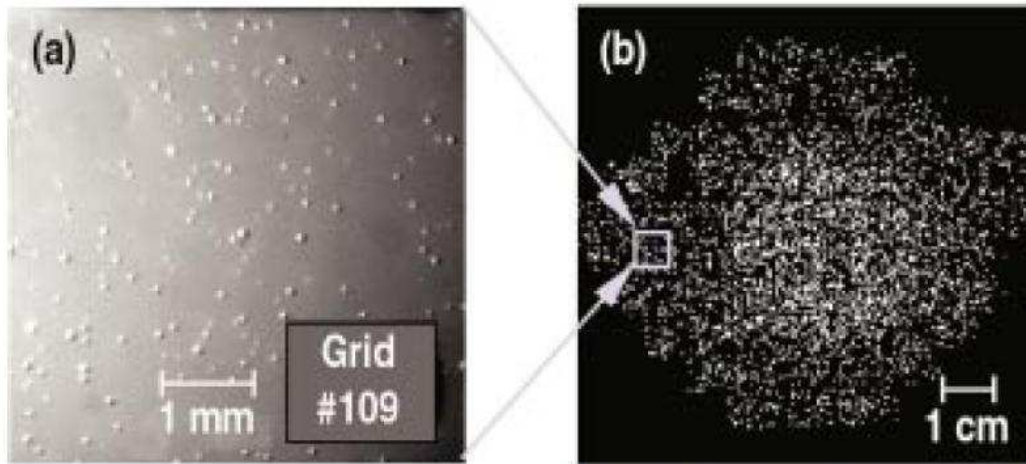


Figure 81 : Images obtenues sur un détecteur à bulles sur un tir de 6×10^{13} neutrons dans les 4π à OMEGA. a) photographie d'une partie de l'image obtenue prise au microscope et montrant des bulles de $60\mu\text{m}$. b) Matrice de localisation des bulles.

La figure 82 représente les résultats obtenus sur l'installation OMEGA à partir du détecteur scintillant et du détecteur à bulles. La taille minimum de source pouvant être reconstruite a été estimée à 45 microns. Les résultats obtenus à l'aide du scintillateur sont plus précis que ceux obtenus sur le détecteur à bulles. La taille de source restituée dans le cas du scintillateur est de $100\mu\text{m}$ contre $175\mu\text{m}$ dans le cas du détecteur à bulles. Par contre l'image obtenue sur le détecteur à bulles présente un meilleur contraste et un meilleur rapport signal sur bruit. La dégradation de la résolution spatiale s'explique par la moins bonne sensibilité du détecteur à bulles.

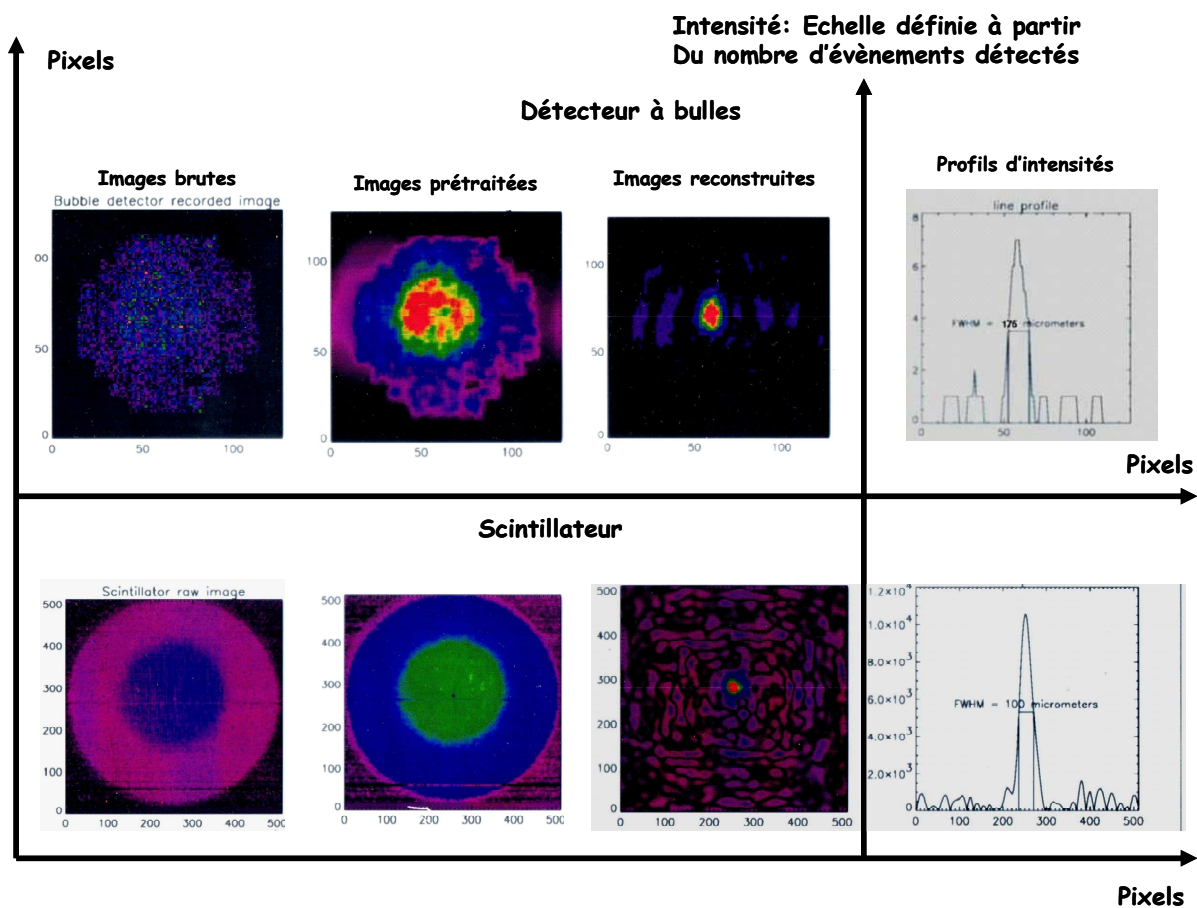


Figure 82 : Résultats obtenus sur l'installation OMEGA à partir d'un tir à 6.10^{13} neutrons dans les 4π respectivement avec détecteur composé de bâtonnets scintillants (en bas) et un détecteur à bulles (en haut).

V- Les méthodes d'analyse développées en imagerie optique moléculaire

V-1 Les objectifs. Les facteurs limitatifs

Les méthodes d'analyse développées dans le cadre de l'imagerie optique moléculaire ont pour objectif principal de localiser, de quantifier et de suivre dans le temps une ou plusieurs sources fluorescentes/bioluminescentes. En termes d'imagerie le dispositif optique et les méthodes d'analyse associées doivent être capables de fournir des résolutions spatiales et temporelles adaptées à la localisation et à la cinétique des phénomènes étudiés. En outre, les méthodes d'analyse doivent être capables de séparer le signal utile des signaux parasites.

Les facteurs limitatifs sont la faible résolution spatiale due à la nature diffusive des photons dans les tissus vivants et la faible sensibilité en profondeur due à l'absorption des photons. De plus, le signal mesuré est dégradé par des signaux parasites que sont le signal d'autofluorescence/autoluminescence des tissus biologiques ainsi que, dans le cas de la fluorescence, le signal d'excitation passant au travers des filtres.

V-2 Les solutions envisagées

Afin de palier les limitations évoquées dans le paragraphe précédent, nous avons utilisé des marqueurs fonctionnant dans le domaine du proche infra rouge [700, 900] nm, afin d'augmenter la sensibilité en profondeur et de réduire les signaux d'autofluorescence ou d'autoluminescence.

Afin de différencier les différentes composantes du signal mesuré et ainsi d'aider à la quantification de la source, nous avons opté pour l'imagerie spectrale associée au développement d'outils d'analyse spectrale tels que la séparation de sources.

V-3 L'imagerie spectrale et ses outils d'analyse

L'imagerie spectrale est souvent utilisée pour détecter dans un champ d'observation un ou plusieurs objets en fonction de leur signature spectrale. Plusieurs centaines d'images d'un même domaine d'observation, prises dans des bandes spectrales adjacentes, sont utilisées pour localiser les objets présents dans le domaine d'observation. Chaque pixel mesuré dans le champ d'observation s'apparente à un vecteur dont chaque composante est la valeur du pixel dans chacune des bandes spectrales utilisées par le dispositif d'imagerie. L'image ainsi mesurée est considérée comme étant la somme des contributions des signatures spectrales des objets présents dans le champ de vision. Un des problèmes majeur de l'analyse spectrale consiste, pour chaque pixel mesuré, à identifier les composants dont il est constitué et à déterminer leurs contributions respectives.

V-3-1 Similitude avec les méthodes numériques utilisées en imagerie Neutronique

En imagerie optique moléculaire, d'après le paragraphe précédent, le signal reçu au niveau du plan de détection peut être considéré comme la superposition des signaux provenant des différents objets présents dans le champ d'observation. De la même façon, en imagerie neutronique, si on considère que la source contient plusieurs

éléments de résolution, le signal recueilli au niveau du plan de détection qui est le résultat de la convolution de la source avec la fonction de transfert du diaphragme, peut aussi être considéré comme étant la superposition de plusieurs signaux, chacun d'eux provenant d'un élément de résolution source particulier. D'une autre façon, l'image de pénombre recueillie sur le détecteur est la superposition des images de pénombre produites par chaque élément de résolution composant la source. Le résultat de cette superposition de signaux est un mélange de l'information concernant le phénomène étudié. L'objectif principal est donc de développer des méthodes d'analyse permettant de séparer et de restituer les différentes composantes contribuant au signal de mesure et notamment la composante correspondant au bruit présent dans le signal de mesure.

En conclusion de cette partie, on fera une comparaison des méthodes numériques de reconstruction développées en imagerie optique de fluorescence avec celles développées en imagerie neutronique, et on montrera les similitudes des approches respectives utilisées dans les deux domaines.

V-3-2 Modélisation du problème de séparation de sources

Le problème de la séparation de sources est un problème fondamental de mathématiques appliquées. Il se modélise d'une manière générale, indépendamment du domaine d'application, de la façon suivante : des signaux (sources) émis par un nombre fini d'émetteurs M indépendants, traversent un milieu inhomogène, se mélangent et sont reçus par un nombre fini de capteurs N . Le dispositif de mesure donne accès aux signaux reçus seulement ; les signaux émis et la matrice $N \times M$ du mélange sont tous inconnus. L'objectif est de restituer les signaux émis à partir des signaux reçus, en se basant sur l'hypothèse d'indépendance mutuelle des signaux sources et dans ce cas le problème est connu sous le nom de l'Analyse en Composantes Indépendantes (ACI). Le mélange peut être linéaire ou non linéaire, variant ou invariant dans le temps. Nous considérerons ici le modèle linéaire invariant dans le temps.

En imagerie spectrale, on assimilera les émetteurs à des constituants indépendants d'un mélange et les capteurs à différentes longueurs d'onde. Si X représente le vecteur spectre du signal reçu, le modèle se traduit par l'équation suivante :

$$\begin{aligned} X &= A * C + E \\ A, C &\geq 0 \\ \sum_{k=1}^M c_k &= 1 \end{aligned} \tag{113}$$

où A de dimension $N \times M$ est la matrice du mélange. M est le nombre de constituants du mélange, N est le nombre de longueurs d'ondes. Les colonnes de A représentent le spectre de chacun des constituants du mélange sur les N longueurs d'onde.

C est un vecteur de dimension M dont les composantes sont les proportions des spectres des différents constituants dans le signal reçu.

E représente l'erreur entre la mesure du spectre X et son estimation obtenue par le produit $A * C$.

En général, pour réaliser la séparation des constituants présents dans X , quelques hypothèses sont nécessaires :

H1 : Les spectres des constituants sont indépendants.

H2 : $N \geq M$.

H3 : La matrice A est de rang complet.

V-3-3 Le modèle linéaire et les méthodes d'analyse numérique associées

Le principe général de la séparation de sources revient à appliquer des transformations aux signaux mesurés X_i de manière à obtenir des signaux statistiquement indépendants qui seront proportionnels aux signaux sources que l'on veut estimer. Ainsi, le problème de la séparation de sources revient à rechercher des composantes indépendantes dans un mélange linéaire de ces dernières [Imagerie moléculaire :21].

La première idée qui vient à l'esprit est d'exploiter la matrice d'auto covariance des observations, mais on s'aperçoit rapidement que celle-ci est insuffisante pour identifier la matrice du mélange A :

En supposant que les signaux sources sont de puissance unité, la matrice d'autocovariance des observations R_X peut s'écrire, en l'absence de bruit:

$$R_X = E[X(n)X(n)^T] = AR_S A^T = AA^T \quad (114)$$

où R_S est la matrice d'auto covariance des signaux sources que l'on supposera égale à la matrice identité (du fait que les signaux sources sont souvent supposés de puissance unité).

Il est clair qu'à partir de la connaissance de R_X , A ne peut être identifiée qu'à une matrice unitaire près et donc l'utilisation de R_X n'est pas suffisante pour la séparation.

Par voie de conséquence, la résolution choisie du modèle linéaire représenté par (113) se formule avec trois grandes étapes [Imagerie moléculaire :21]:

- Séparation en composantes indépendantes.
- Constitution de la matrice du mélange.
- Résolution du problème inverse visant à déterminer le vecteur C caractérisant le signal reçu.

La séparation en composantes indépendantes (ACI) vise à exprimer le vecteur X de dimension N en termes de composantes linéairement et statistiquement indépendantes. Une formulation restrictive est de supposer que chacune de ces composantes soit mono dimensionnelle et qu'ainsi le nombre de composantes soit égal à la dimension de l'observation. Le modèle peut alors s'écrire:

$$X = DS \quad (115)$$

D est une matrice $N \times N$ inversible et S un vecteur de dimension N dont les entrées sont statistiquement indépendantes.

Pour déterminer S , il faut résoudre:

$$\text{Min}_A I(D^{-1}X) \quad (116)$$

I représentant une mesure de dépendance d'un vecteur aléatoire. L'outil le plus communément employé pour mesurer l'indépendance est l'information mutuelle. Une mesure de la distance entre deux distributions peut alors être vue comme un moyen de caractériser leur indépendance. La divergence de Kullback-Leibler mesure la distorsion entre deux fonctions de densité de probabilité $p(s)$ et $q(s)$, elle est donnée par:

$$d(p, q) = \int p(s) \log \frac{p(s)}{q(s)} ds \quad (117)$$

Si $P_{S1}, P_{S2}, \dots, P_{Sn}$ sont respectivement les densités de chacune des composantes de S , P_S la distribution résultante s'écrit:

$$P_S = \prod_i P_{S_i} \quad (118)$$

On peut montrer que:

$$\text{Min}_A I(D^{-1}X) = \text{Min}_{D, P_S} d(P_X, P_S) \quad (119)$$

Ce qui signifie que l'ajustement le plus vraisemblable des données au modèle $X=DS$, $P_S = \prod_i P_{S_i}$, s'obtient en cherchant les composantes les plus indépendantes possible au sens de (116) avec la définition (117).

D'une manière générale, un vecteur aléatoire n'admet pas de représentation de la forme (115) avec S de composantes indépendantes. Pour pallier ce problème, on a recouru à la séparation en composantes principales (ACP) [Imagerie moléculaire :22] qui fournit une décomposition unique en composantes décorréélées, orthogonales et extraites par ordre décroissant d'énergie.

Bien que la propriété d'orthogonalité des composantes principales n'a rien de physique, l'algorithmique de l'ACP est simple à comprendre et facile à mettre en œuvre (voir annexe G). Un des avantages de l'ACI/ACP est de réduire la dimensionnalité du modèle et donc de diminuer le volume de données et les temps de calcul correspondants.

Pour la constitution de la matrice du mélange, on utilise deux approches. La première approche suppose de connaître les constituants du mélange et d'utiliser leurs spectres, soit à partir d'une librairie de spectres existants, soit en ayant effectué des expériences permettant de connaître ces spectres. La deuxième approche consiste à extraire directement les spectres constitutifs du mélange à partir du signal mesuré.

Dans la première approche, les spectres extraits d'une bibliothèque préétablie, vont présenter des différences avec les spectres réellement présents dans la mesure et il faudra chercher à minimiser l'erreur entre le signal mesuré X et l'estimation du signal $A\tilde{C}$ calculé à partir des spectres issus de la bibliothèque préétablie, soit:

$$E = d(\vec{X} - A\tilde{C}) = \left\| \vec{X} - A\tilde{C} \right\|_{\text{Euclidienne}}^2 \quad (120)$$

Dans la deuxième approche [Imagerie moléculaire :22], on peut utiliser les résultats de l'ACP et conclure que le nombre de valeurs propres significatives est une borne supérieure du nombre de constituants du mélange. À partir du fait que les constituants du mélange ne peuvent apparaître qu'aux extrémités du volume déterminé à partir des composantes fournies par l'ACP, on peut déterminer les différents constituants du mélange par une méthode du simplexe qui consiste à se déplacer le long du polytope défini par les composantes ACP jusqu'à atteindre un optimum.

L'objectif de la résolution du problème inverse est de déterminer le vecteur $C=(c_i, i=1,M)$ de (113) avec les contraintes:

$$c_i \in [0,1]$$

$$\sum_{i=1}^M c_i = 1 \quad (121)$$

Dans beaucoup de cas, ni les constituants (matrice A), ni leurs proportions (vecteur C) dans le signal mesuré X ne sont connus et l'algorithme d'inversion consiste à déterminer à la fois A et C dans le modèle représenté par (113). Par contre dans les cas où la matrice du mélange est connue, l'algorithme d'inversion se borne à déterminer les composantes du vecteur C , en tenant compte des contraintes représentées par (121). La plupart des algorithmes existant aujourd'hui utilisent une convergence aux moindres carrés ainsi que la distance Euclidienne.

V-3-3-1 Les algorithmes d'inversion considérés

Dans un premier temps, nous avons supposé que les spectres des constituants du mélange représenté par les colonnes de la matrice A étaient connus et nous avons utilisé une décomposition en valeurs singulières de la matrice A pour déterminer \vec{C} à l'aide du modèle sans contraintes $\vec{X} = A\vec{C}$ avec A et \vec{X} normalisés.

Le deuxième type d'algorithme considéré, suppose A inconnue et prend en compte les contraintes, à savoir la non négativité du vecteur \vec{C} . Si G est une matrice $N \times P$ de mesure ($X_1, X_2, X_3, \dots, X_P$) avec X_i représentant un spectre mesuré, l'objectif de ce type d'algorithme est de trouver une matrice W de dimension $N \times M$ et une matrice H de dimension $M \times P$ de telle sorte que $G \approx WH$. M est le rang de la matrice W et est choisi de telle sorte que $M \leq \min(N, P)$. Ainsi chaque spectre mesuré X_i peut s'écrire :

$$X_j = \sum_{i=1}^N W_i H_{i,j} \quad 1 \leq j \leq P \quad (122)$$

V-3-3-2 Les méthodes existantes

- La décomposition en valeurs singulières (DVS)

Dans ce paragraphe, on suppose la matrice du mélange A connue et on se sert d'une décomposition de A en valeurs singulières pour déterminer un optimum \vec{C}_{LS} , au sens des moindres carrés de \vec{C} dans le modèle représenté par (113).

L'expression de \vec{C}_{LS} peut s'écrire :

$$\vec{C}_{LS} = (A^T A)^{-1} A^T \vec{X} \quad (123)$$

On se sert de la décomposition en valeurs singulières de A pour estimer $(A^T A)^{-1}$

La décomposition en valeurs singulières de A peut s'écrire :

$$A = U \Sigma V^T \quad (124)$$

où U est une matrice $N \times M$ telle que $U^T U = I_M$. I_M est la matrice identité de rang M .

V est une matrice $M \times M$ telle que $V^T V = I_M$. S est une matrice diagonale $M \times M$ avec pour diagonale $(s_1, s_2, s_3, \dots, s_r, 0, 0, 0)$ où r est le rang de la matrice A avec $s_1 > s_2 > s_3 > \dots > s_r > 0$.

En tenant compte de (124), $(A^T A)^{-1}$ peut s'écrire :

$$(A^T A)^{-1} = V \frac{1}{\Sigma^2} V^T \quad (125)$$

En tenant compte des équations 124 et 125, \vec{C}_{LS} s'écrit:

$$\vec{C}_{LS} = V \frac{1}{\Sigma} U^T \vec{X} \quad (126)$$

- La factorisation en matrices non négatives (FMN)

Si G est une matrice positive de dimension $N \times P$ dont les P colonnes X_i constituent la mesure d'un signal sur N longueurs d'onde, l'objectif est de déterminer une matrice W de dimension $N \times M$ et un vecteur h de dimension M , de telle manière qu'une représentation de X_i soit:

$$X_i \cong Wh \quad (127)$$

avec h représentant une colonne de la matrice H .

Si on veut faire une comparaison avec le modèle décrit par (113), on peut écrire:

$$X_i = AC + E \cong Wh \quad (128)$$

Les matrices A et W jouent le même rôle, à la seule différence près que A s'appuie sur une bibliothèque de spectres connue, alors que les colonnes de W sont directement extraites du signal mesuré. Si on généralise le modèle (127) à un ensemble de signaux mesurés, soit la matrice G , l'objectif est de déterminer W et $H > 0$ de telle manière à ce que l'on ait [Imagerie moléculaire: 23,24]:

$$\begin{aligned} G &\cong WH \quad W \in R^{N \times M}, H \in R^{M \times P} > 0 \\ \text{Min}_{W,H} f(W,H) &= \frac{1}{2} \|G - WH\|_F^2 \\ M &\ll \text{Min}(N,P) \end{aligned} \quad (129)$$

$\| \cdot \|_F$ représente la norme de Frobenius.

$$\|G - WH\|_F^2 = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^P (G_{i,j} - (WH)_{i,j})^2 \quad (130)$$

Une des méthodes itératives les plus couramment utilisées, consiste à utiliser alternativement deux minimisations aux moindres carrés, l'une sur W quand H est fixé, l'autre sur H quand W est fixé. L'algorithme résultant prend la forme suivante:

- Initialiser W et H avec deux matrices W^1 et H^1 non négatives.
- Pour $k=1,2,\dots$

$$\begin{aligned} W^{k+1} &= \text{Min}_{W \geq 0} f(W, H^k) \\ H^{k+1} &= \text{Min}_{H \geq 0} f(W^{k+1}, H) \end{aligned} \quad (131)$$

Lee et Seung (2001) [Imagerie moléculaire: 25,26] ont montré que f n'augmentait pas, c'est-à-dire que:

$$\begin{aligned} f(W^{k+1}, H^k) &\leq f(W^k, H^k) \\ f(W^{k+1}, H^{k+1}) &\leq f(W^{k+1}, H^k) \end{aligned} \quad (132)$$

De plus ils ont montré que la limite de la séquence $\{W^k, H^k\}_{k=1}^{\infty}$ est un point fixe satisfaisant à la condition de Karush-Kuhn-Tucker, c'est-à-dire:

$$\begin{aligned} W \geq 0, \quad \nabla_W f(W, H) = (WH - G)H^T \geq 0, \quad W.*\nabla_W f(W, H) = 0 \\ H \geq 0, \quad \nabla_H f(W, H) = W^T((WH - G)) \geq 0, \quad H.*\nabla_H f(W, H) = 0 \end{aligned} \quad (133)$$

En supposant que la fonction f est séparable, c'est-à-dire:

$$f(W, H) = \sum_j \|X_j - Wh\|^2 \quad (134)$$

où X_j et h représentent respectivement les colonnes des matrices G et H .

Les deux sous-problèmes de minimisation représentés dans (131) reviennent à résoudre à chaque itération k , m (nombre de colonnes de W) problèmes du type $\text{Min}_{w \geq 0} f(H, w)$ (Type 1) et p (nombre de colonnes de H) problèmes du type $\text{Min}_{h \geq 0} f(W, h)$ (Type2) où w et h représentent respectivement une colonne des matrices W et H .

Si on tient compte du fait qu'en général les éléments des matrices W et H appartiennent à un convexe fermé Ω de \mathbb{R}^n , les problèmes de type 1 et 2 évoqués plus haut peuvent s'écrire:

$$\text{Min}_{\bar{x} \in \Omega} f(\bar{x}) \quad (135)$$

où le vecteur \bar{x} représente respectivement w et h les colonnes de W et H .

Parmi les méthodes utilisées pour résoudre les problèmes de minimisation du type 135, nous avons considéré les méthodes de gradient projeté réduit, et plus particulièrement celle mise au point par Bertsekas (1999) [Imagerie Moléculaire: 27], dont l'algorithme est représenté ci-dessous:

- Soit $\beta, \sigma \in [0, 1]$ et \bar{x}_0 une valeur initiale du vecteur \bar{x} .
- Pour $k=1, 2, \dots$

$$\bar{x}_{k+1} = P[\bar{x}_k - \alpha_k \nabla f(\bar{x}_k)]$$

où P désigne la projection de Ω sur \mathbb{R}^n et $\alpha_k = \beta^{t_k}$, t_k est le plus petit entier tel que la condition suivante soit vérifiée:

$$f(\bar{x}_{k+1}) \leq f(\bar{x}_k) + \sigma \nabla f(\bar{x}_k)^T (\bar{x}_{k+1} - \bar{x}_k) \quad (136)$$

Bertsekas (1976) [Imagerie moléculaire : 28] a montré qu'il existe toujours un α_k qui satisfait la condition (136) et que la suite $\{\bar{x}_k\}_{k=1}^{\infty}$ converge vers un point fixe.

Calamai et Moré (1987) [Imagerie moléculaire: 29] ont mis au point une version améliorée de l'algorithme précédent:

- $\beta=0.1, \sigma=0.01, \alpha_0=1, \bar{x}_1$ valeur initiale de \bar{x} .
- $K=1, 2, \dots$
 - a. $\alpha_k = \alpha_{k-1}$.
 - b. Si α_k satisfait (120) alors prendre $\alpha_k = \alpha_k / \beta$ jusqu'à que α_k ne satisfasse plus (135) ou bien que $\bar{x}(\alpha_k / \beta) = \bar{x}(\alpha_k)$.

Sinon $\alpha_k = \alpha_k \cdot \beta$ jusqu'à que α_k satisfasse (136).

$$c. \quad \bar{x}_{k+1} = P[\bar{x}_k - \alpha_k \nabla f(\bar{x}_k)]$$

On peut utiliser l'algorithme précédent pour résoudre les problèmes de minimisation relatifs aux colonnes de W et de H .

Afin de réduire le temps d'exécution de l'algorithme précédent, on reformule les problèmes de type 1 et type 2 de la manière suivante [Imagerie moléculaire: 26] :

$$\begin{aligned} \text{Type1: } \min_{h \geq 0} \bar{f}(h) &= \frac{1}{2} \|G - Wh\|_F^2 \quad \text{avec } G \text{ et } W \text{ constantes} \\ \text{Type2: } \min_{w \geq 0} \bar{f}(w) &= \frac{1}{2} \|G^T - H^T w\|_F^2 \quad \text{avec } G^T \text{ et } H^T \text{ constantes} \end{aligned} \quad (137)$$

Enfin pour utiliser le fait que \bar{f} est quadratique et pour optimiser l'algorithme précédent, on utilise la propriété suivante:

$$\begin{aligned} &\text{Pour } f \text{ quadratique et } \vec{d} \text{ vecteur :} \\ &f(\vec{x} + \vec{d}) = f(\vec{x}) + \nabla f(\vec{x})^T \vec{d} + \frac{1}{2} \vec{d}^T \nabla^2 f(\vec{x}) \vec{d} \end{aligned} \quad (138)$$

La condition (136) appliquée aux problèmes reformulés par (137), s'écrit:

$$\begin{aligned} \text{Type1: } (1 - \sigma) \langle \nabla \bar{f}(H_k), (H_{k+1} - H_k) \rangle + \frac{1}{2} \langle (H_{k+1} - H_k), (W^T W (H_{k+1} - H_k)) \rangle &\leq 0 \\ \text{Type2: } (1 - \sigma) \langle \nabla \bar{f}(W_k), (W_{k+1} - W_k) \rangle + \frac{1}{2} \langle (W_{k+1} - W_k), (H H^T (W_{k+1} - W_k)) \rangle &\leq 0 \end{aligned} \quad (139)$$

L'algorithme mis au point par Calamai et Moré devient :

- $\beta=0.1, \sigma=0.01, \alpha_0=1, H_1$ et W_1 les valeurs initiales de W et H .
- $K=1, 2, \dots$
 - a. $\alpha_k = \alpha_{k-1}$.
 - b. Si α_k satisfait (139) alors faire $\alpha_k = \alpha_k / \beta$ jusqu'à que α_k ne satisfasse plus (139) ou bien que $\bar{x}(\alpha_k / \beta) = \bar{x}(\alpha_k)$.
- Sinon $\alpha_k = \alpha_k \cdot \beta$ jusqu'à que α_k satisfasse 139.
- c. $H_{k+1}; W_{k+1} = P[H_k; W_k - \alpha_k \nabla f(H_k; W_k)]$ selon que l'on itère sur H ou W .

Les critères d'arrêts sont :

$$\begin{aligned} \nabla_W^P \bar{f}(W) &\leq \varepsilon_W \\ \nabla_H^P \bar{f}(H) &\leq \varepsilon_H \end{aligned} \quad (140)$$

avec $\varepsilon_W = \varepsilon_H = \text{Max}(10^{-3}, \varepsilon) \|\nabla f(W_1, H_1)\|_F^2$

$\nabla_W^P \bar{f}(W)$ et $\nabla_H^P \bar{f}(H)$ étant respectivement les projections de ∇W et ∇H sur les composantes positives ou nulles des matrices W et H .

V-3-3-3 Optimisation. Les méthodes développées

Les deux types de méthodes décrites précédemment DVS (décomposition en valeurs singulières) et FMN (factorisation en matrices non négatives) ont été utilisées pour la détection de fluorophores à l'intérieur de tissus vivants ou morts (fig 79). Les fluorophores utilisés étaient le GFP (Green Fluorescent Protein) et le DsRed émettant respectivement dans les gammes [500,650]nm pour le GFP et [550, 700]nm pour le DsRed.

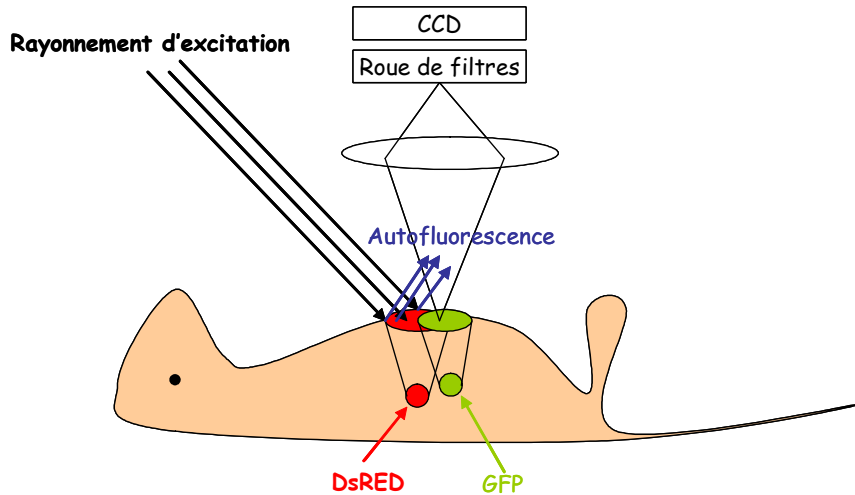


Figure 79 : Contexte expérimental.

Le rayonnement d'excitation induit l'émission des fluorophores GFP et DsRED ainsi qu'un rayonnement d'autofluorescence émis par les tissus. Le rayonnement total en sortie du petit animal est recueilli sur la CCD. La mesure est composée de plusieurs images, chacune obtenue à l'aide d'une roue de filtres dans une longueur d'onde spécifique appartenant à la gamme [500, 700]nm. Les spectres d'émission des fluorophores utilisés sont connus à partir d'une bibliothèque de spectres et la signature spectrale du rayonnement d'autofluorescence a été mesurée avant d'introduire les fluorophores dans le corps du petit animal.

Les méthodes utilisées pour localiser les fluorophores sont basées sur les méthodes décrites dans le paragraphe précédent. Elles nous ont amené à adopter deux approches différentes suivant le type de fluorophore considéré GFP ou DsRed.

L'utilisation d'une DVS à partir d'une bibliothèque de spectres originaux, fournit des résultats tout à fait satisfaisants pour la localisation du GFP. La même méthode utilisée pour la détection du DsRed a montré des limites, dans la mesure où elle n'a pu séparer les spectres d'autofluorescence du tissu et d'émission du Dsred de manière satisfaisante. L'approche qui a été adoptée dans ce cas part du principe que les spectres des fluorophores, tels qu'ils apparaissent dans la mesure, sont différents de ceux que l'on connaît à partir d'une bibliothèque de spectres originaux. La technique utilisée a été une technique de factorisation en matrices non négatives (FMN) $G=W.H$ dans laquelle les valeurs initiales de W et H sont données soit par une technique DVS classique, soit par une technique DVS couplée à une analyse multi résolution. Cette dernière technique utilise les spectres des fluorophores à partir de la bibliothèque des spectres originaux et a pour objectif de diminuer le vecteur E de (98) à l'aide d'une décomposition en ondelettes. Dans cette approche, le problème à résoudre peut s'écrire:

$$\begin{aligned}
& \text{Trouver } [\vec{C}_j]_{j=1}^{Nb} \text{ tel que :} \\
& [\vec{X}_j]_{j=1}^{Nb} = A.[\vec{C}_j]_{j=1}^{Nb} + \vec{E} \text{ avec } \vec{C}_j \geq 0 \\
& \min \vec{E} = \Delta_A . [\vec{C}_j]_{j=1}^{Nb}
\end{aligned} \tag{141}$$

expression dans laquelle Nb représente le nombre de points mesurés. Chaque point mesuré est noté $\vec{X}_j = (x_{1j}, x_{2j}, \dots, x_{nj})$ avec n le nombre de longueur d'onde. On a $\Delta_A = (\delta_1, \delta_2, \dots, \delta_M)$ avec M le nombre de constituants du mélange (M=3 dans le contexte de la figure 79) et δ_i $i=1, M$ représentant la différence entre les spectres des fluorophores, tels qu'ils ont été utilisés dans la matrice A, et tels qu'ils apparaissent dans le signal mesuré.

- Analyse multi résolution et décomposition en ondelettes

L'analyse multirésolution repose sur le fait qu'un signal ou une image contient des informations utiles sur une grande variété d'échelles et que ces informations sont souvent indépendantes d'une échelle à l'autre. Le principe de l'analyse multirésolution consiste à décomposer l'image à plusieurs niveaux de résolution, chaque niveau de résolution j étant lui-même décomposé en la somme de sa tendance T_j (basses fréquences) et de ses fluctuations D_j (hautes fréquences) autour de la tendance. Typiquement, un niveau de résolution j sera défini par une grille $\Gamma_j = 2^{-j} Z^2$ où Z est l'ensemble des entiers relatifs. L'expression du signal initial S pourra s'écrire :

$$S = T_0 + \sum_j D_j = T_0 + \sum_j \sum_k \alpha_{j,k} \psi_{j,k} \tag{142}$$

T_0 représente la tendance la plus grossière et l'ensemble $\{\psi_{j,k}\}_k$ représente un ensemble de fonctions appelées « ondelettes ». Les principales propriétés de ces ondelettes sont :

- L'ensemble des ondelettes forment une base de l'espace.
- Les « ondelettes » ont le pouvoir de décorrélérer les données quand on passe d'un niveau de résolution j au niveau de résolution j-1.
- Pour obtenir une approximation suffisamment précise et avec un nombre fini de coefficients, les ondelettes doivent avoir un support compact (pour être concentrées au niveau spatial) et décroître aussi bien vers les basses fréquences que vers les hautes fréquences (filtre passe bande).

D'une manière générale, une ondelette ψ est une fonction de $L^2(\mathbb{R})$ normalisée ($\int |\psi(x)|^2 dx = 1$) et de moyenne nulle ($\int_{-\infty}^{+\infty} \psi(x) dx = 0$). Elle comporte deux paramètres, un paramètre d'échelle a et un paramètre de localisation spatiale b. Elle a pour expression générale:

$$\psi_{a,b}(x) = \frac{1}{\sqrt{a}} \psi\left(\frac{x-b}{a}\right) \tag{143}$$

Le choix de l'ondelette ψ dépend du type d'analyse à réaliser et du type de signal pris en compte. En pratique, on construit des ondelettes qui génèrent des bases orthonormées de $L^2(\mathbb{R})$ discrètes.

$$\left\{ \psi_{j,k}(x) = \frac{1}{\sqrt{2^j}} \psi\left(\frac{x - 2^j k}{2^j}\right) \right\}_{(j,k) \in \mathbb{Z}^2} \quad (144)$$

expression dans laquelle ψ est l'ondelette « mère », j représente le niveau de résolution et $2^j k$ la localisation spatiale au niveau de résolution j .

Pour minimiser le vecteur d'erreur \vec{E} du modèle représenté par (113), nous avons utilisé les ondelettes type Daubechies d'ordre 4 qui forment une base orthonormée, à cause du théorème suivant :

Théorème : Une transformation linéaire orthonormale ne change pas la solution d'une estimation des coefficients du modèle linéaire.

Démonstration : Une transformation linéaire orthonormale est représentée par la matrice U telle que : $U^{-1} = U^T$, $U^T U = I$.

Il vient en tenant compte de (113) et (123):

$$\begin{aligned} U\vec{X} &= UA\vec{C}_0 + U\vec{E} \\ \vec{C}_{LS} &= \left((UA)^T UA \right)^{-1} (UA)^T U\vec{X} = (A^T U^T UA)^{-1} A^T U^T U\vec{X} \\ &= (A^T A)^{-1} A^T \vec{X} \end{aligned}$$

- Application au modèle linéaire

L'optimisation proposée pour la résolution du modèle linéaire (113) comprend deux étapes. La première étape utilise une analyse multirésolution pour sélectionner le niveau de résolution j_{\min} pour lequel l'erreur $\vec{E}_{j_{\min}}$ est minimum. Les composantes du vecteur $\vec{C}_{j_{\min}}$ sont alors utilisées dans la deuxième étape pour initialiser la résolution d'un problème du même type que celui représenté par (113).

L'optimisation de la méthode se fait dans la première étape que l'on va détailler maintenant. On effectue une décomposition en ondelettes à quatre niveaux de résolution des vecteurs \vec{X} ainsi que pour chacune des colonnes de la matrice $A = (P\vec{S}_1, P\vec{S}_2, P\vec{S}_3, \dots, P\vec{S}_M)$ représentant respectivement les spectres des constituants du mélange. Le résultat de cette décomposition va permettre d'extraire à différents niveaux de résolution j ($j=1,4$) les caractéristiques des vecteurs $\vec{X}, P\vec{S}_1, P\vec{S}_2, \dots, P\vec{S}_M$ [Imagerie moléculaire : 30, 31]. On utilise la base d'ondelettes de Daubechies d'ordre 4 qui forme une base orthonormée de \mathbb{R}^n , n étant le nombre de longueurs d'ondes utilisées. On sait, par définition des ondelettes, que les caractéristiques des vecteurs $\vec{X}, \{P\vec{S}_i\}_{i=1,M}$ extraites à chaque niveau de résolution sont décorréliées les unes des autres. On va alors se servir du théorème précédent pour estimer à chaque niveau de résolution j , respectivement dans l'espace des tendances (T_j) et l'espace des fluctuations (D_j), les normes des vecteurs erreurs $\|\vec{E}_j^+\|^2$ et $\|\vec{E}_j\|^2$:

$$\begin{aligned}
A_j &= \{T_j(P\vec{S}_i)\}_{i=1,M}, \quad B_j = \{D_j(P\vec{S}_i)\}_{i=1,M} \\
T_j(\vec{X}) &= A_j \vec{C}_j^+ \\
D_j(\vec{X}) &= B_j \vec{C}_j \\
\|\vec{E}_j^+\|^2 &= \|T_j(\vec{X}) - A_j \vec{C}_j^+\|^2 \\
\|\vec{E}_j\|^2 &= \|D_j(\vec{X}) - B_j \vec{C}_j\|^2
\end{aligned} \tag{145}$$

$T_j(\vec{X}), T_j(P\vec{S}_i)_{i=1,M}$ et $D_j(\vec{X}), D_j(P\vec{S}_i)_{i=1,M}$ représentent respectivement les tendances et les fluctuations des vecteurs $\vec{X}, \{P\vec{S}_i\}_{i=1,M}$.

A chaque niveau de résolution j , $\|\vec{E}_j^+\|^2$ et $\|\vec{E}_j\|^2$ sont estimés en résolvant les problèmes linéaires $T_j(\vec{X}) = A_j \vec{C}_j^+, D_j(\vec{X}) = B_j \vec{C}_j$. On estime ensuite $\vec{C}_{j_{\min}} = \text{Min}_j \left\{ \|\vec{E}_j^+\|^2, \|\vec{E}_j\|^2 \right\}$, soit pour optimiser la détermination des composantes du vecteur \vec{C} d'un problème linéaire sans contraintes de type $\vec{X} = A\vec{C}$ [Imagerie moléculaire: 30], soit pour initialiser une méthode itérative destinée à déterminer les composantes de vecteur \vec{C} d'un problème linéaire avec contraintes [Imagerie moléculaire: 29] :

$$\begin{aligned}
\vec{X} &= A\vec{C} \\
\{c_i\}_{i=1,M} &\geq 0 \quad \sum_{i=1,M} c_i = 1
\end{aligned} \tag{146}$$

V-4 Résultats et discussion

V-4-1 Rappel des objectifs et description des expériences d'imagerie optique de fluorescence

Dans cette partie, les méthodes que j'ai développé (paragraphe V-3-3-3) ont été appliquées à l'imagerie optique de fluorescence. L'objectif principal est de localiser et de quantifier l'émission d'un fluorophore lorsque celui-ci est implanté à l'intérieur de tissus vivants. Les deux types de fluorophores utilisés sont le GFP (Green Fluorescent Protein) et le DsRed dont l'émission se situe dans le proche infra rouge. Les spectres d'excitation et d'émission de ces deux marqueurs sont rappelés figure 80.

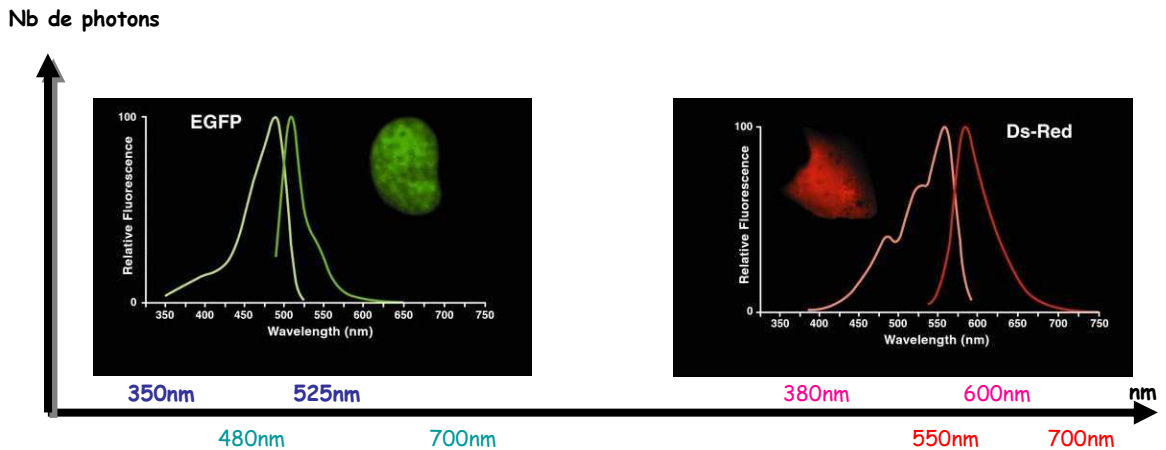


Figure 80 : Spectres d'émission et d'excitation des marqueurs GFP et DsRed.

Le graphe de gauche représente le spectre d'excitation (350-525 nm) et le spectre d'émission (480-700 nm) du GFP. L'écart entre les maxima des deux spectres s'appelle le Stokes Shift et il est d'environ 50nm. Le graphe de droite représente les spectres d'excitation (380-600 nm) et d'émission (550-700 nm) du DsRed. Le Stokes Shift du DsRed est d'environ 50nm.

En général le signal d'émission du fluorophore, après qu'il a traversé une épaisseur allant de quelques mm à plusieurs cm de tissu, est déformé par rapport à son émission originelle. De plus, le signal, tel qu'il est mesuré au niveau du détecteur, est constitué de l'émission du fluorophore et du signal d'autofluorescence, réponse du tissu au signal d'excitation du fluorophore. L'expression du signal mesuré S peut donc s'écrire :

$$S = S_1 + S_2 = \alpha_1.FI + \alpha_2.T \quad (147)$$

expression dans laquelle S_1 et S_2 sont respectivement les contributions de l'émission du fluorophore et de la réaction du tissu au signal d'excitation. FI et T représentent les spectres d'émission du fluorophore et d'autofluorescence du tissu, α_1 et α_2 les proportions respectives de ces spectres dans le signal mesuré S .

Il s'agit donc de mettre au point des techniques numériques spécifiques qui, à partir du signal mesuré S , soient capables à la fois d'extraire les composantes S_1 et S_2 et de restituer les spectres actualisés FI et T tels qu'ils apparaissent dans S .

J'ai, dans le but de mettre au point de telles techniques, défini et mené sur le site de l'entreprise Américaine XENOGEN (USA), trois séries d'expériences utilisant les marqueurs GFP et DsRed. Une première série a été réalisée sur un spectrofluoromètre dont le schéma est représenté figure 81.

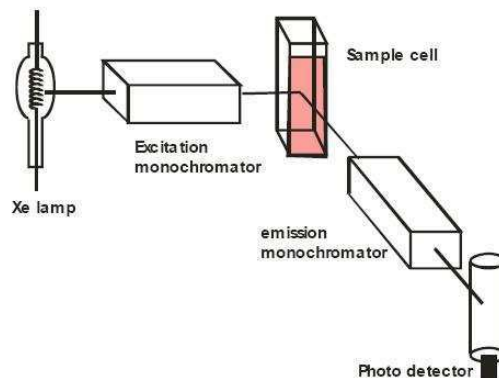


Figure 81 : Schéma fonctionnel du spectrofluoromètre utilisé.

Les signaux recueillis sur le photo détecteur sont des spectres avec une résolution spectrale de 1nm. Les signaux bruts mesurés étaient issus de 4 échantillons. Deux échantillons provenaient d'une dose de 10^6 cellules fluorescentes de type GFP et les deux autres d'une dose de 10^6 cellules fluorescentes de type DsRed, toutes implantées respectivement dans 2 et 4mm de tissu mort. Les spectres correspondant à l'autofluorescence du tissu résultant respectivement des rayonnements d'excitation dans le vert [480,700]nm et dans le proche infra rouge) [550,700]nm, l'émission des marqueurs fluorescent GFP et DsRed ainsi que les spectres bruts mesurés sont représentés dans la figure 82.

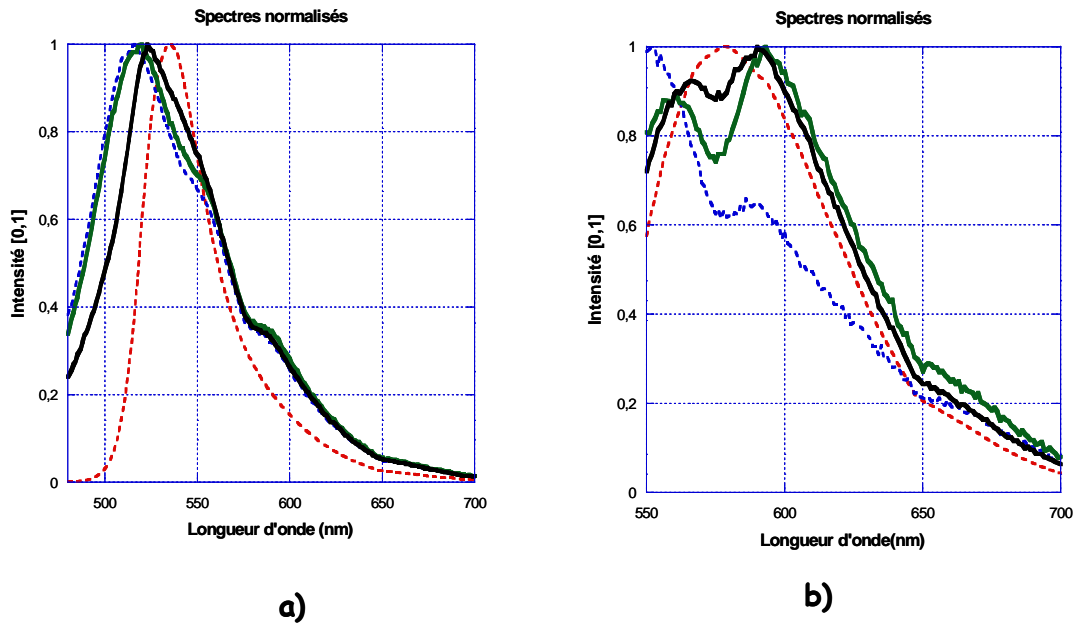


Figure 82 : Emissions normalisées des fluorophores GFP et Dsred pour des rayonnements d'excitation dans le vert (figure a) et dans le proche infra rouge (figure b). La résolution spectrale est de 1nm.

Les courbes en pointillés rouges représentent les émissions des fluorophores GFP et DsRed. Les courbes en pointillés bleus représentent le spectre d'autofluorescence des tissus. Les courbes en trait continu verts et noirs représentent l'émission des fluorophores à travers des tissus d'épaisseurs respectives 2mm et 4mm.

Deux autres séries d'expériences ont été réalisées sur le site de la société XENOGEN (USA) à l'aide d'un système de la gamme IVIS 200 commercialisé par celle-ci (Figure 83).

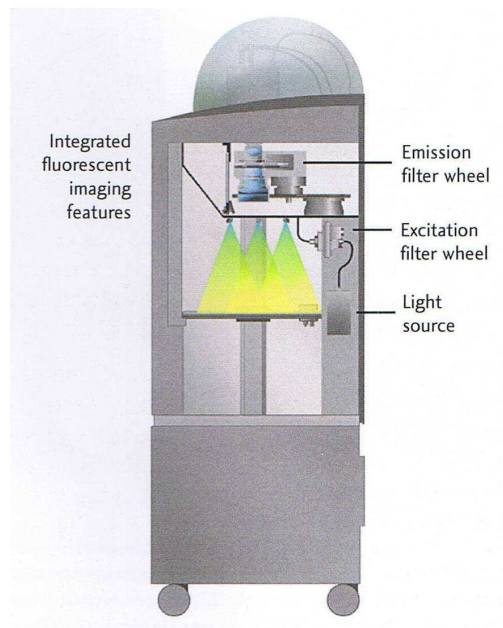


Figure 83 : Schéma fonctionnel de l'IVIS 200 équipé d'une roue de filtres à 24 positions pour faire de l'imagerie de fluorescence.

Les spectres originaux normalisés correspondant à l'émission des marqueurs GFP, DsRed ainsi que l'autofluorescence du tissu, associée à des rayonnements d'excitation émettant dans le vert et dans le proche infra rouge, sont représentés figure 84.

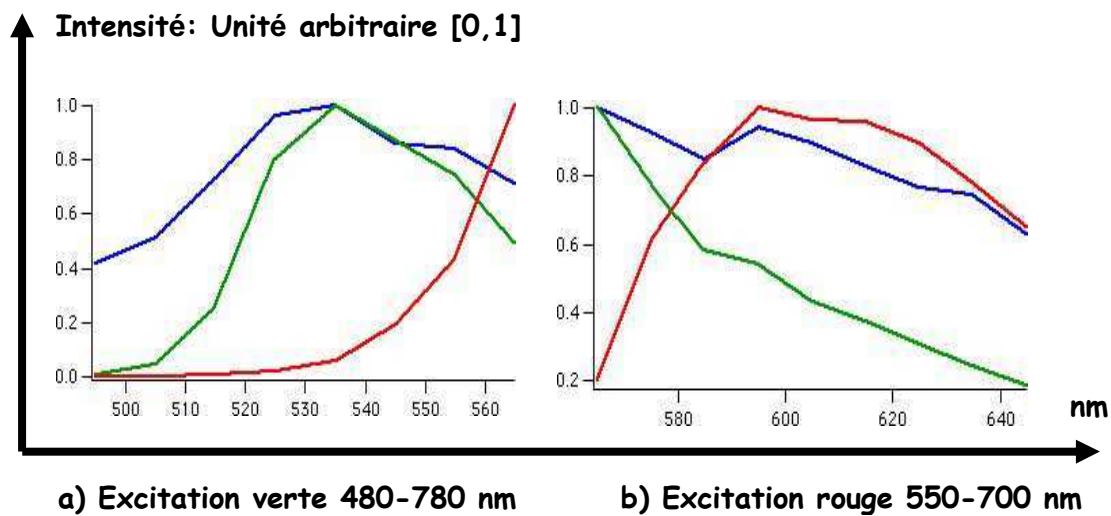


Figure 84 : Spectres d'émission des marqueurs GFP (courbe verte), DsRed (courbe rouge) et le spectre d'autofluorescence du tissu (courbe bleue). a) rayonnement d'excitation dans le vert. b) rayonnement d'excitation dans le proche infra rouge.

Alors que le spectrofluoromètre n'avait pas de résolution spatiale, les résultats expérimentaux recueillis sur la caméra CCD de l'IVIS 200 se présentent sous la forme d'un ensemble d'images de 240x240 pixels, chacune d'entre elles correspondant à différentes longueurs d'ondes espacées entre elles de 10nm. Ainsi les résultats résultant d'un rayonnement d'excitation dans le domaine du vert se composeront de 8 images pour des longueurs d'ondes allant de 495 à 565 nm et les résultats résultant d'un rayonnement dans le domaine du proche infra rouge se composeront de 9 images pour des longueurs d'onde allant de 565 à 645 nm. La première série d'expériences reproduit les mêmes conditions que celles réalisées sur le spectrofluoromètre, à savoir l'émission de 10^6 cellules fluorescentes de type GFP et DsRed à travers des épaisseurs respectives de 4 et 6mm de tissu mort. Les figures 85 et 86 représentent respectivement les images expérimentales brutes correspondant à l'émission des marqueurs GFP et DsRed à travers 4mm de tissu mort.

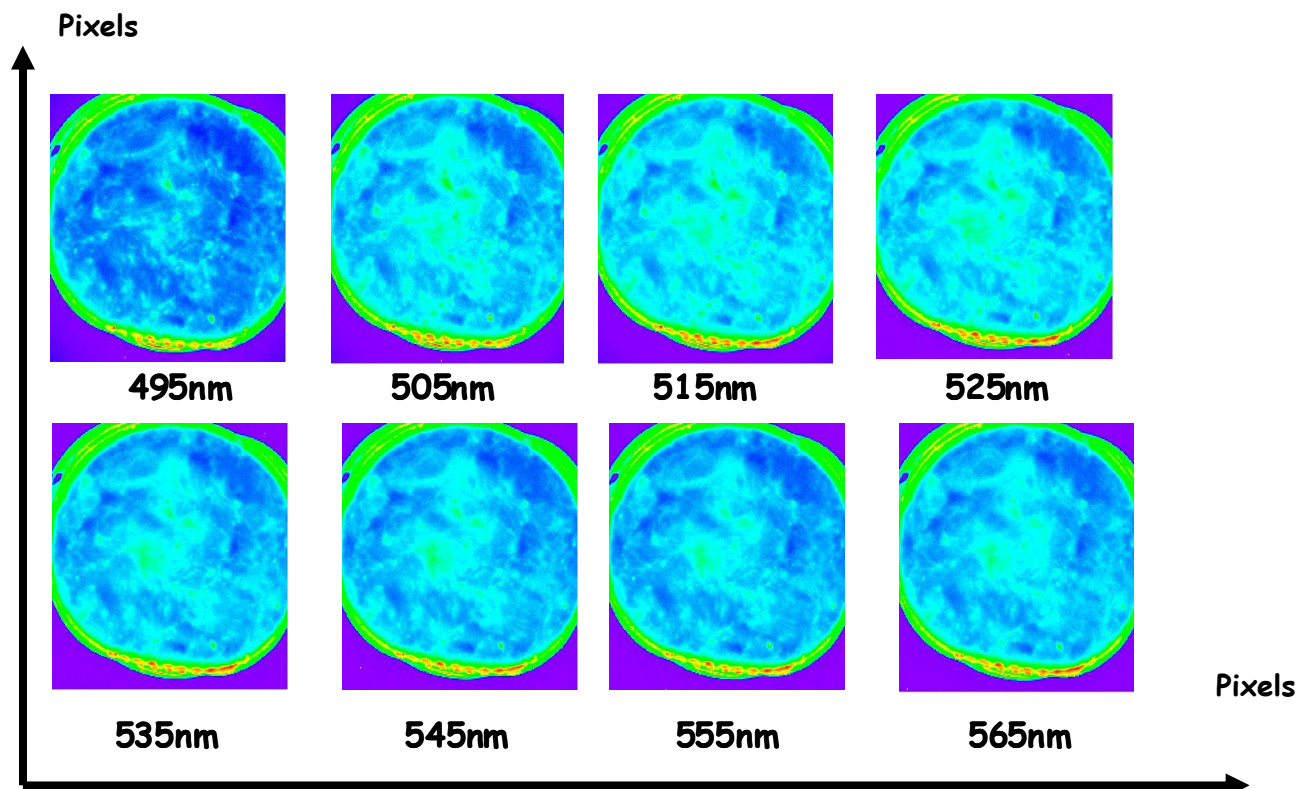


Figure 85 : Images brutes (8 images de 240x240 pixels) correspondant à l'émission du GFP à travers 4mm de tissus pour un rayonnement d'excitation dans la gamme [480,700]nm. La résolution spectrale est de 10nm.

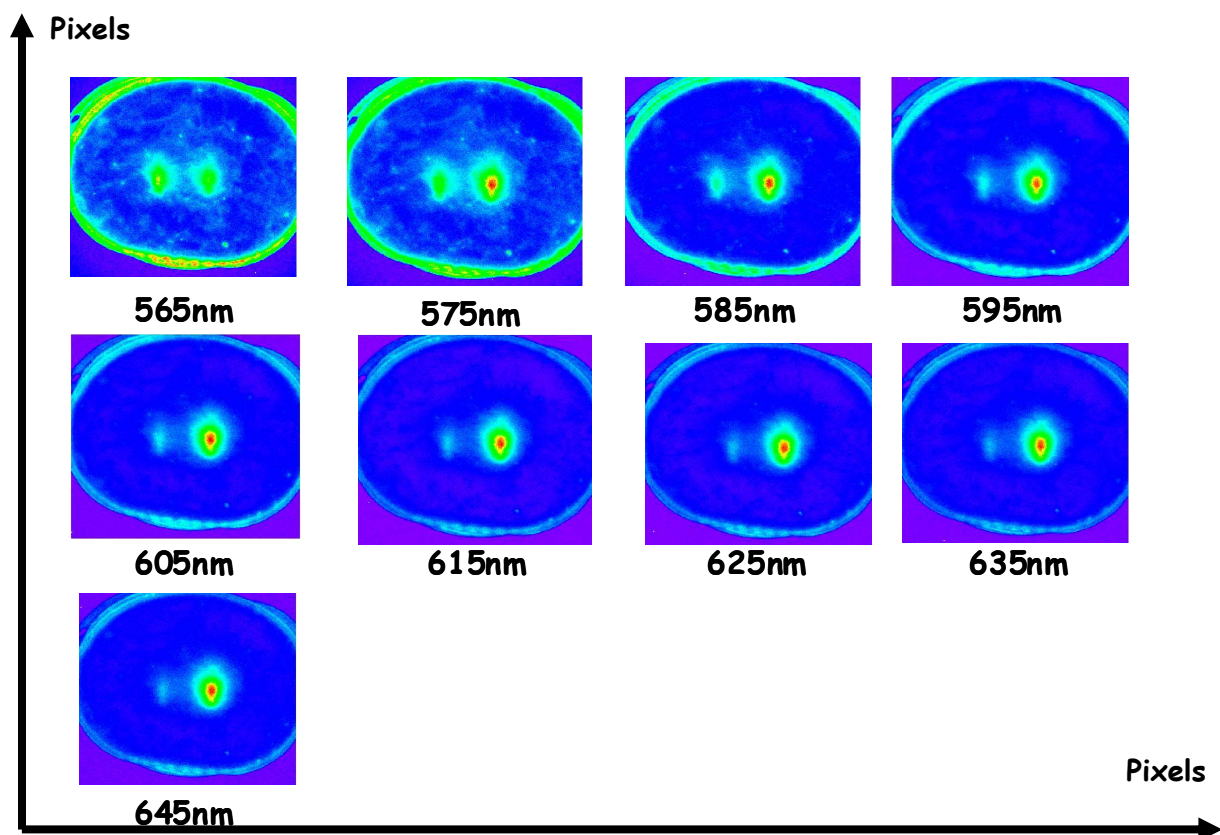


Figure 86 : Images brutes (9 images 240x240 pixels) correspondant à l'émission du DsRed à travers 4mm de tissus pour un rayonnement d'excitation dans la gamme [550,700]nm. La résolution spectrale est de 10nm.

Les images 87 et 88 représentent respectivement les images expérimentales brutes correspondant à l'émission des marqueurs GFP et DsRed à travers 6mm de tissu mort.

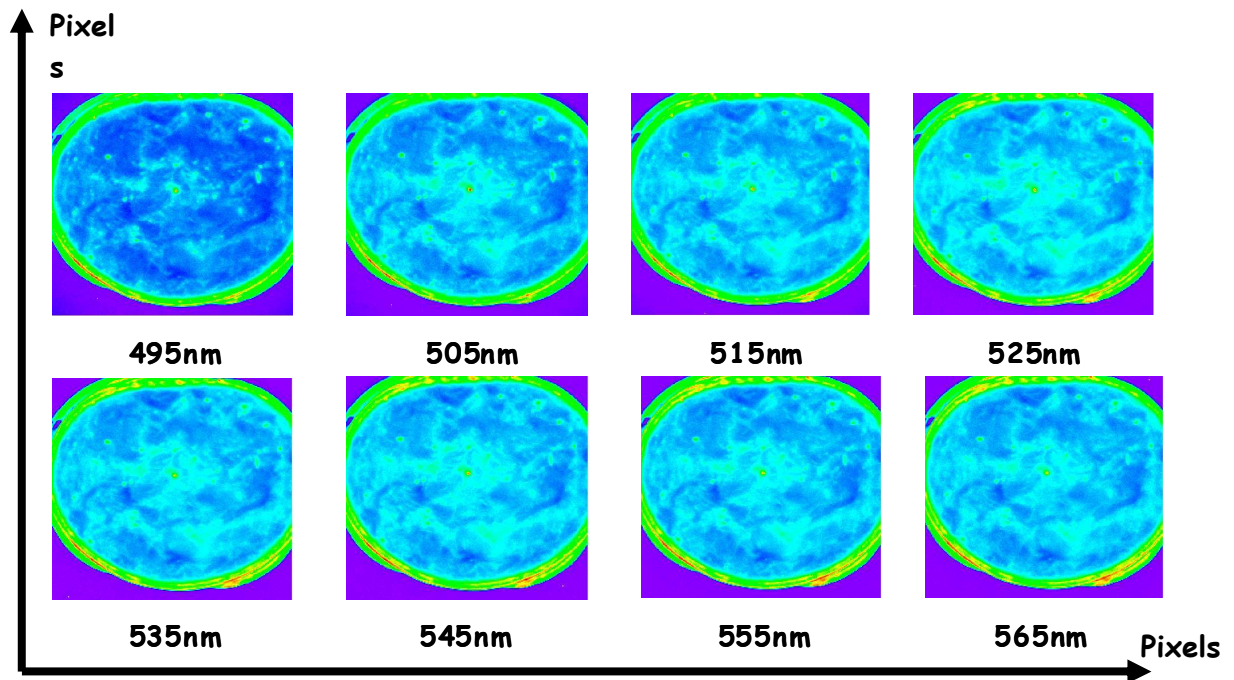


Figure 87 : Images brutes (8 images de 240x240 pixels) correspondant à l'émission du GFP à travers 6mm de tissus pour un rayonnement d'excitation dans la gamme [480,700]nm. La résolution spectrale est de 10nm.

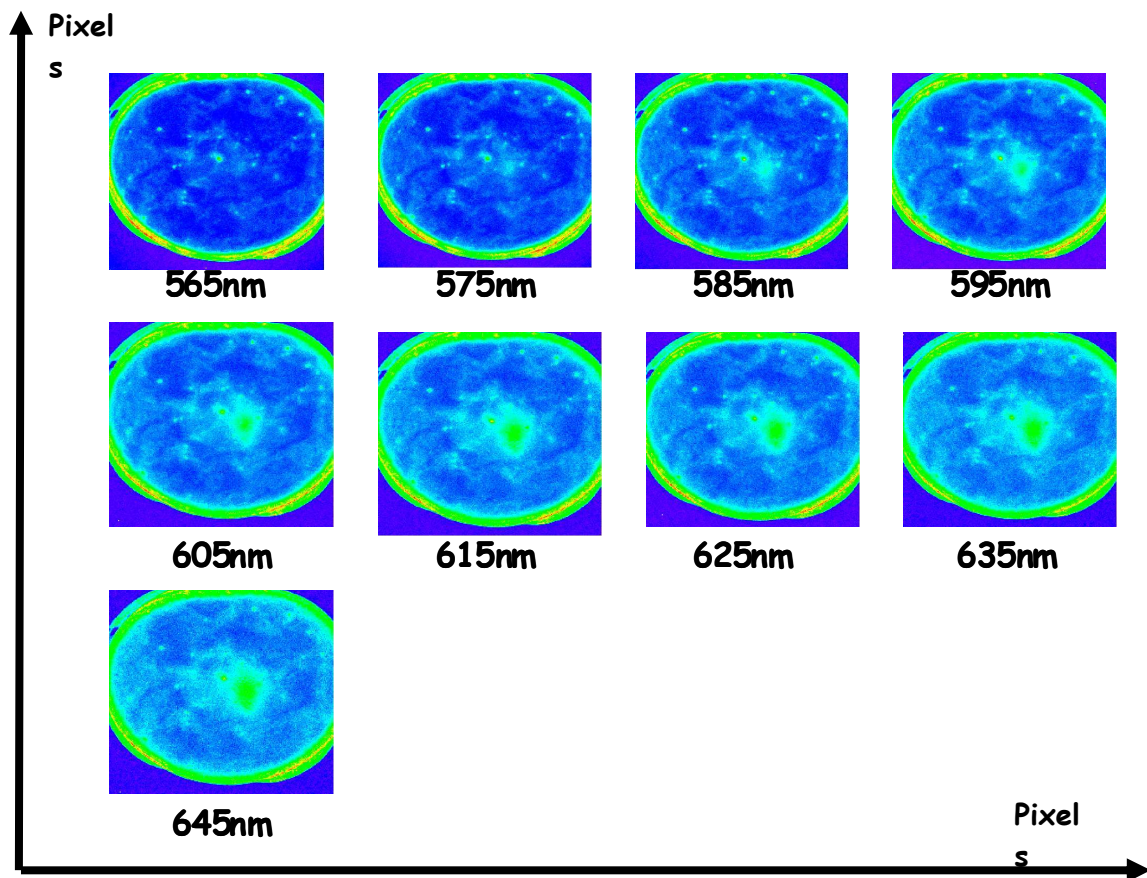


Figure 88 : Images brutes (9 images 240x240 pixels) correspondant à l'émission du DsRed à travers 6mm de tissus pour un rayonnement d'excitation dans la gamme [550,700]nm. La résolution spectrale est de 10nm.

L'émission du marqueur GFP est visible aussi bien dans les figures 85 et 87 que dans les figures 86 et 88 puisque son domaine d'émission va de 480 à 700nm. Le signal d'autofluorescence du tissu est beaucoup plus fort dans la région du spectre d'excitation du GFP soit [445,490]nm que dans la région du spectre d'excitation du DsRed [500,550]nm, ce qui explique que l'émission du GFP est beaucoup moins visible dans les figures 85 et 87 que dans les figures 86 et 88.

Une deuxième série d'expériences a été réalisée sur des souris vivantes. Les résultats expérimentaux représentés dans les figures 89 et 90 montrent les émissions de 10^6 cellules fluorescentes de type GFP et DsRed injectées en sous cutané respectivement à des profondeurs de 4mm pour le GFP (souris de gauche) et 6mm pour le DsRed (souris de droite).

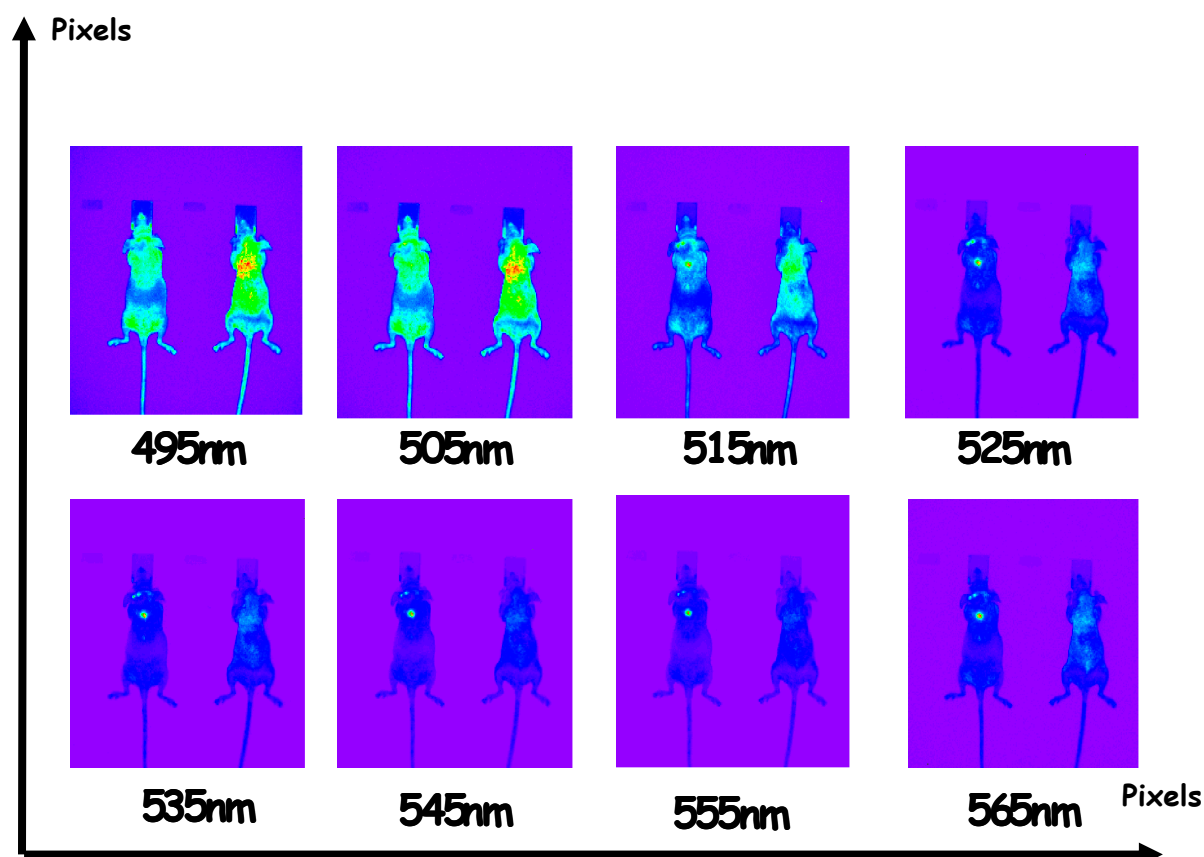


Figure 89 : Images brutes (8 images 240x240 pixels) correspondant à l'émission du GFP et du DsRed pour un rayonnement d'excitation dans la gamme [480,700] nm.

La figure 89 montre les résultats expérimentaux pour un rayonnement d'excitation dans la gamme [480,700]nm.

La figure 90 montre les résultats expérimentaux correspondant à un rayonnement d'excitation dans la gamme [550,700]nm.

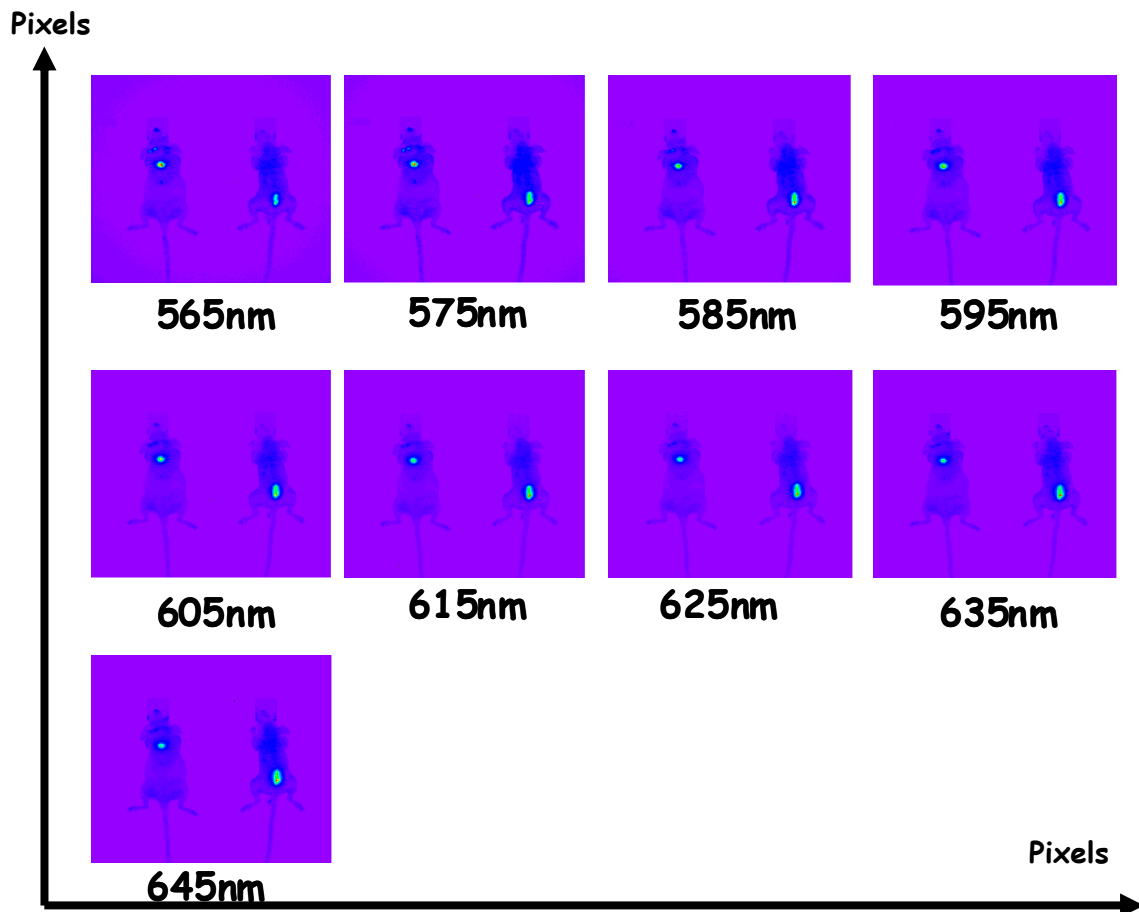


Figure 90 : Emissions des marqueurs GFP et DsRed (9 images 240x240 pixels) correspondant à un rayonnement d'excitation dans la gamme [550,700]nm.

V-4-2 Analyse des résultats expérimentaux

Dans un premier temps, pour localiser et quantifier les émissions respectives des marqueurs GFP et DsRed, une méthode de décomposition en valeurs singulières (DVS) a été appliquée aux résultats expérimentaux correspondant à la figure 82 et aux groupes d'images (85-86-87-88) et (89-90). On observe que, d'une manière générale, une méthode type DVS suffit dans la plupart des cas pour localiser et quantifier l'émission du marqueur GFP. Par contre, on remarque qu'au delà de 4mm, il n'est pas possible de restituer l'émission des 10^6 cellules fluorescentes de GFP, celle-ci étant totalement absorbée par l'épaisseur de tissu traversée par le rayonnement.

Contrairement au GFP, il est possible de restituer l'émission d'une quantité équivalente de cellules fluorescentes de type Dsred, parce qu'à la même profondeur, le facteur d'atténuation dû à l'épaisseur de tissu traversé est moins élevé que celui correspondant au GFP (figure 55-paragraphe III-3-2-1). Par contre, pour localiser et quantifier de manière précise l'émission du DsRed, il est nécessaire d'utiliser les méthodes décrites dans le paragraphe V-3-3-3 parce qu'à des profondeurs identiques, l'élargissement du spectre d'émission du DsRed est plus importante que celle du GFP (figure 56-paragraphe III-3-2-1).

V-4-2-1 Localisation et quantification du marqueur GFP

- Analyse des résultats obtenus sur le spectrofluoromètre

Dans le cas du spectrofluoromètre, il s'agit, pour un rayonnement d'excitation dans le domaine du vert c'est-à-dire dans la gamme [480,700] nm, de restituer, à partir du signal brut recueilli sur le photo détecteur, le spectre d'émission du GFP tel qu'il se présente après avoir traversé une certaine épaisseur de tissu mort. La matrice du mélange A (113), composée du spectre d'auto fluorescence du tissu et du spectre original d'émission du GFP, a été constituée à partir des spectres originaux représentés dans la figure 82-a. Une méthode de décomposition en valeurs singulières (DVS) de A a été ensuite utilisée pour déterminer les spectres d'auto fluorescence du tissu et d'émission du GFP tels qu'ils apparaissent dans le signal brut fourni par le spectrofluoromètre. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 91.

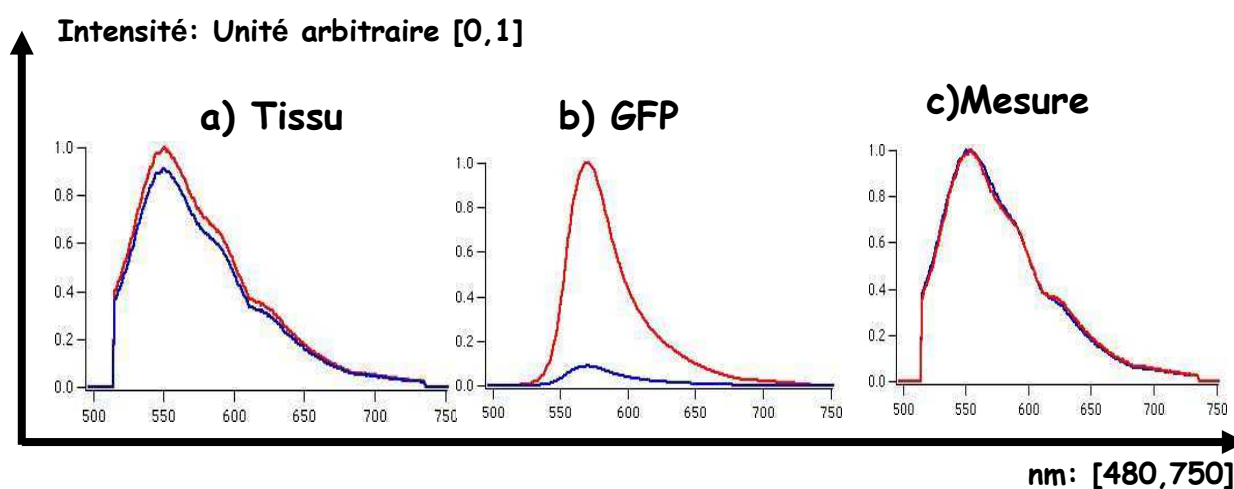


Figure 91 : Comparaison des spectres originaux (courbes en rouge) et des spectres restitués par une DVS (courbes en bleu).

Les courbes en rouge sur les graphes a), b), c) représentent respectivement les spectres en entrée de la méthode DVS : a) est le spectre d'auto fluorescence du tissu mesuré sans la présence du marqueur GFP; b) est le spectre original du marqueur GFP ; c) est le spectre mesuré en présence du marqueur GFP. A partir de ces spectres, l'algorithme de décomposition en valeurs singulières a restitué des estimations (courbes en bleu) des spectres d'émission d'auto fluorescence du tissu (a) et du marqueur GFP(b). On constate que sur le graphe a) les spectres mesuré et calculé sont en parfait accord, sur le graphe b) la méthode DVS a restitué le spectre du GFP (courbe bleu) après qu'il ait traversé 3mm de tissu ce qui explique son atténuation par rapport au spectre original (courbe rouge). Le signal détecté a ensuite été calculé à partir des spectres en bleu des graphes a) et b) et montre un parfait accord avec le signal tel qu'il a été mesuré au niveau du photo-détecteur.

- Analyse des résultats obtenus sur l'IVIS 200

La même méthode a été utilisée pour les résultats expérimentaux des figures 85 et 87 obtenus à l'aide du système IVIS 200 et représentant l'émission du GFP respectivement à travers 4 et 6mm de tissu. La matrice du mélange A est composée

du spectre d'auto fluorescence du tissu mesuré sans la présence du marqueur GFP et du spectre original d'émission du marqueur GFP (figure 84-a). A partir de la matrice A ainsi constituée et des images brutes de la figure 85 correspondant à une profondeur de la source de 4mm, les résultats fournis par une DVS sont représentés sur la figure 92. Les images a) et b) représentent respectivement les contributions des deux spectres de la matrice A dans les images brutes de mesure (figure 85). La valeur de chaque pixel des figures a) et b) représente respectivement les contributions de l'auto fluorescence du tissu et du marqueur GFP dans le même pixel de l'image de mesure.

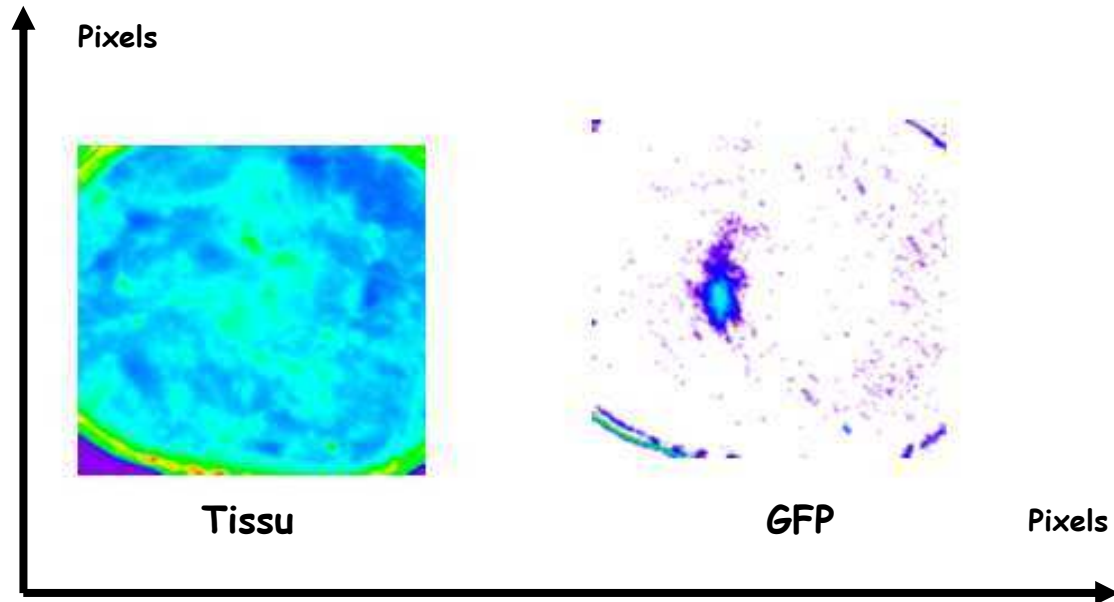


Figure 92 : Spectres d'auto fluorescence du tissu et d'émission du GFP correspondant à une profondeur de source de 4mm.

Les résultats fournis par une DVS à partir de la même matrice de mélange et des images brutes de la figure 87 correspondant à une profondeur de source de 6mm sont représentés figure 93.

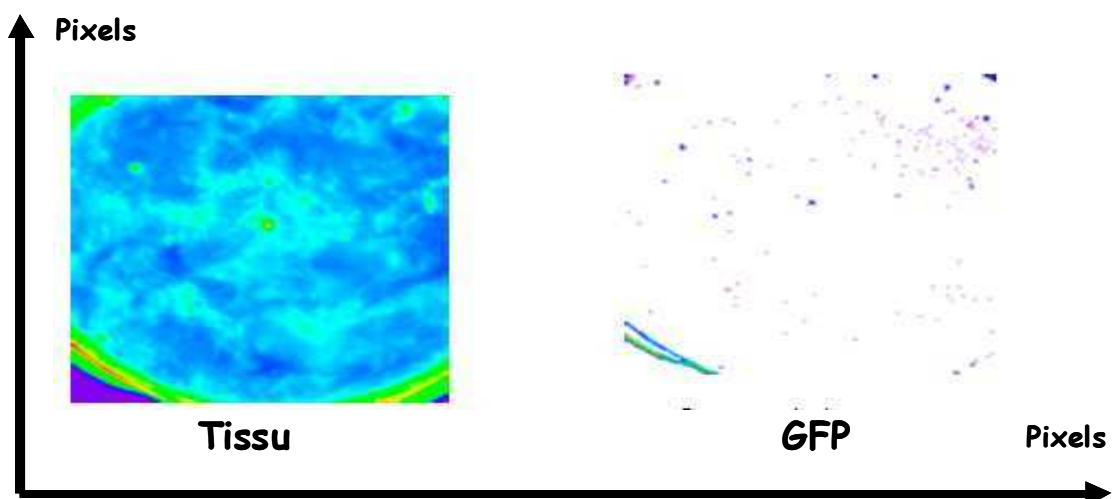


Figure 93 : Spectres d'auto fluorescence du tissu et d'émission du GFP correspondant à une profondeur de source de 6mm.

A 6mm de profondeur, l'émission des 10^6 cellules fluorescentes de GFP est entièrement absorbée par le tissu. En effet, d'après la figure 60 du paragraphe III-3-4-2, le nombre minimum de cellules fluorescentes de GFP nécessaire pour que l'émission soit détectable, est de 10^7 .

Les résultats obtenus par application d'une méthode identique à partir des résultats de la figure 89 montrant l'émission de 10^6 cellules fluorescentes de GFP injectés en sous cutané à une souris vivante sont donnés dans la figure 94.

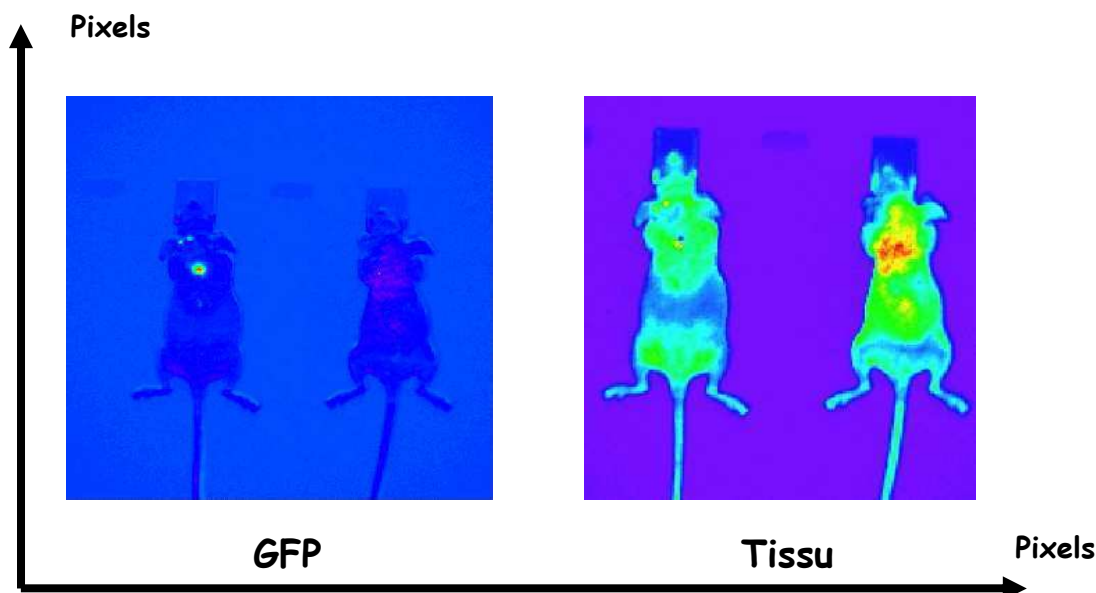


Figure 94 : Spectres d'auto fluorescence du tissu et d'émission du GFP correspondant à l'injection de 10^6 cellules fluorescentes (souris de gauche).

V-4-2-2 Localisation et quantification du marqueur DsRed

Dans le cas d'un rayonnement d'excitation fonctionnant dans le rouge, c'est-à-dire dans la gamme [550,700]nm, le facteur d'atténuation dû à l'épaisseur de tissu traversé par le rayonnement d'émission du DsRed et le niveau du signal d'auto fluorescence du tissu sont moins élevés. Il sera donc possible de détecter à de grandes profondeurs des quantités de cellules fluorescentes de DsRed équivalentes à celles utilisées dans le cas de la détection du GFP à de moins grandes profondeurs. Par contre, la localisation et la quantification du DsRed nécessitera des méthodes d'analyse spécifiques (paragraphe V-3-2-3) à cause de la déformation du spectre d'émission du DsRed due à l'épaisseur de tissu traversé par le rayonnement.

- Analyse des résultats obtenus sur le spectrofluoromètre

Une méthode DVS a été appliquée dans un premier temps pour restituer les contributions respectives du spectre d'émission du DsRed et du spectre d'auto fluorescence du tissu pour un rayonnement d'excitation comprenant les longueurs d'onde entre 565 et 645nm. La matrice du mélange A est constituée du spectre d'auto fluorescence du tissu mesuré et du spectre original d'émission du marqueur DsRed (figure 82-b). Les résultats obtenus sont représentés en figure 95.

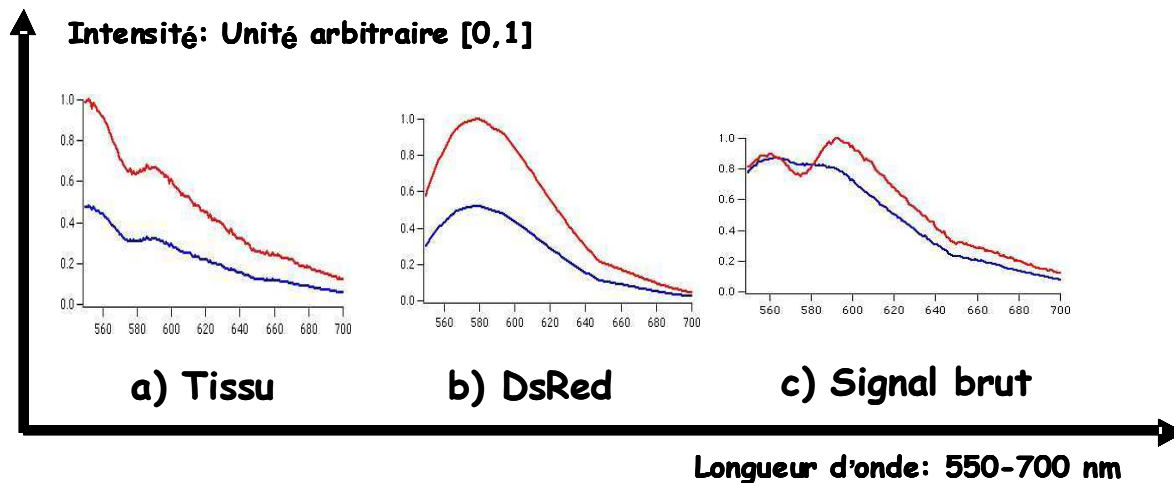


Figure 95 : Résultats de séparation des spectres d'auto fluorescence du tissu et d'émission du DsRed obtenu par une DVS.

Les courbes en rouge des figures a et b représentent respectivement les spectres originaux d'auto fluorescence du tissu et d'émission du DsRed utilisés pour constituer la matrice du mélange A. La courbe en rouge de la figure c représente le signal mesuré. Les courbes en bleu des figures a) et b) représentent respectivement les spectres obtenus après décomposition en valeurs singulières de A. La courbe en bleu de la figure c) représente le signal brut recalculé à partir des courbes en bleu des figures a) et b). On note une différence entre le signal mesuré (courbe rouge) et le signal calculé (courbe bleu) de la figure c. Cette différence provient du fait que le spectre d'émission original du DsRed utilisé pour initialiser la méthode DVS ne correspond pas au spectre du DsRed tel qu'il est réellement après la traversée de 4mm de tissu. Pour déterminer le spectre du DsRed tel qu'il est après la traversée de 4mm de tissu et les contributions $C=(C1,C2)$ des signaux d'auto fluorescence du tissu et d'émission du marqueur DsRed contenus dans le signal brut mesuré S, nous avons utilisé une FMN que nous avons initialisée à l'aide d'une méthode DVS couplée à une décomposition en ondelettes (paragraphe V-3-2-3-1). Les résultats obtenus sont représentés figure 96.

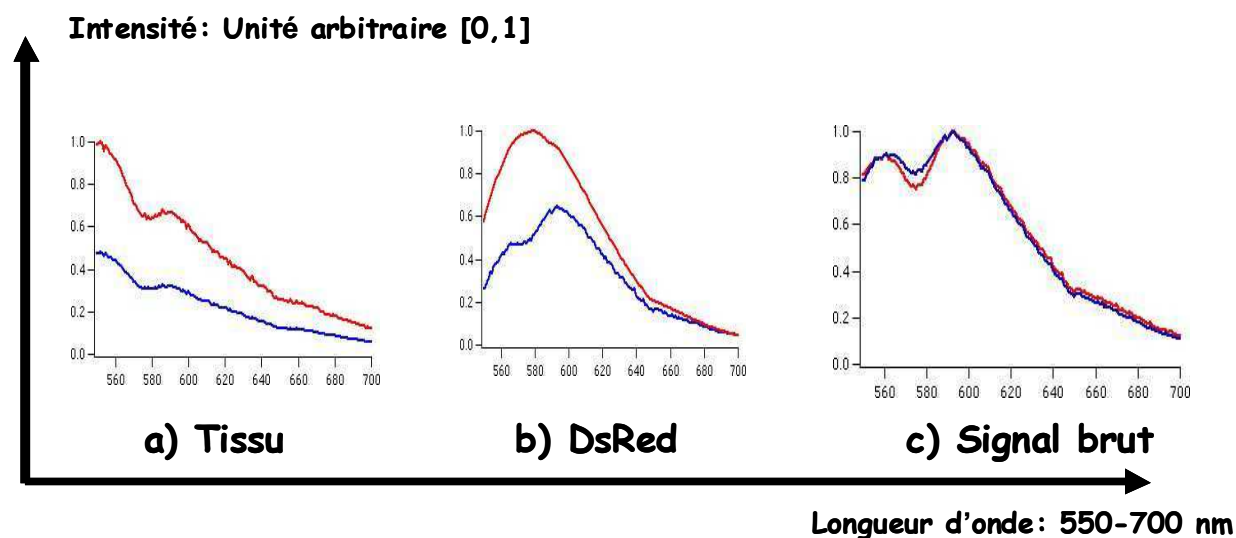


Figure 96 : Résultats obtenus après une décomposition en matrices non négatives couplée à une initialisation utilisant une analyse multi résolution.

On note que seule la contribution du DsRed (b-courbe bleu) change par rapport au résultat donné par la méthode DVS. Au bout de 5 itérations, il n'y a plus de différence entre le signal mesuré (c courbe rouge) et le signal recalculé (c courbe bleu).

- **Analyse des résultats obtenus sur l'IVIS 200**

Une méthode DVS a été appliquée sur les images brutes de la figure 86 (correspondant à 4mm de tissu mort) à partir du spectre d'auto fluorescence du tissu mesuré et du spectre original d'émission du marqueur DsRed. Les résultats obtenus sont représentés figure 97.

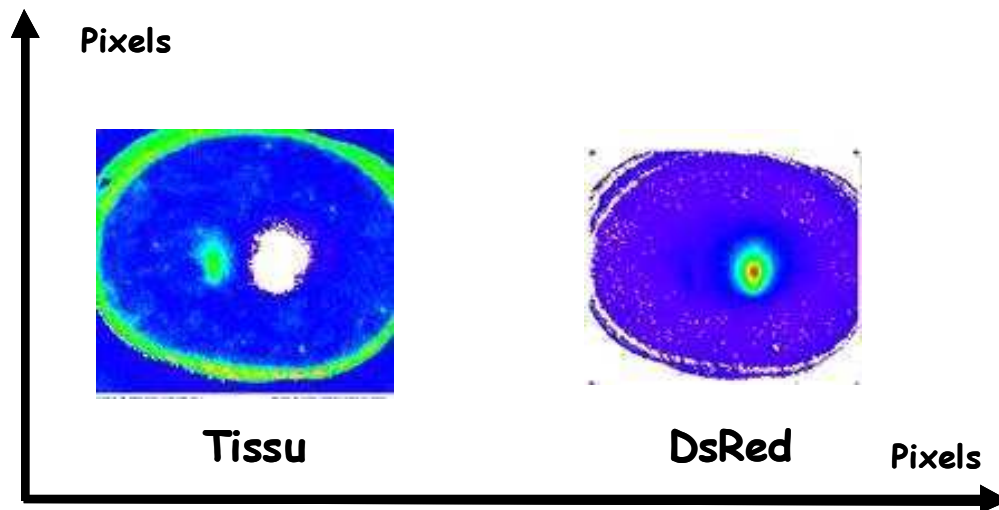


Figure 97 : Séparation des spectres d'auto fluorescence du tissu et d'émission du DsRed à l'aide d'une DVS.

Les résultats montrent que les spectres originaux utilisés par la DVS ne permettent pas de séparer de manière satisfaisante l'émission du DsRed et l'émission d'auto fluorescence du tissu. La pondération relative au signal d'auto fluorescence du tissu apparaît à la fois dans les images de droite et de gauche. De plus, le spectre du GFP apparaît dans la figure de gauche en même temps que la pondération de l'auto fluorescence du tissu. En effet la décomposition en valeurs singulières de la matrice de mélange A fournit le nombre de composantes indépendantes significatives présentes dans l'image initiale et la composante du GFP y est négligeable (Figure 84-b, courbe verte). Pour optimiser les résultats de la figure 97, nous avons utilisé une FMN afin de récupérer les spectres tels qu'ils apparaissent dans l'image mesurée ainsi que leurs pondérations. La résolution spectrale étant de 10nm, nous avons initialisé la méthode FMN avec les spectres originaux et les pondérations représentées dans la figure 97. L'ensemble des résultats est donné sur la figure 98.

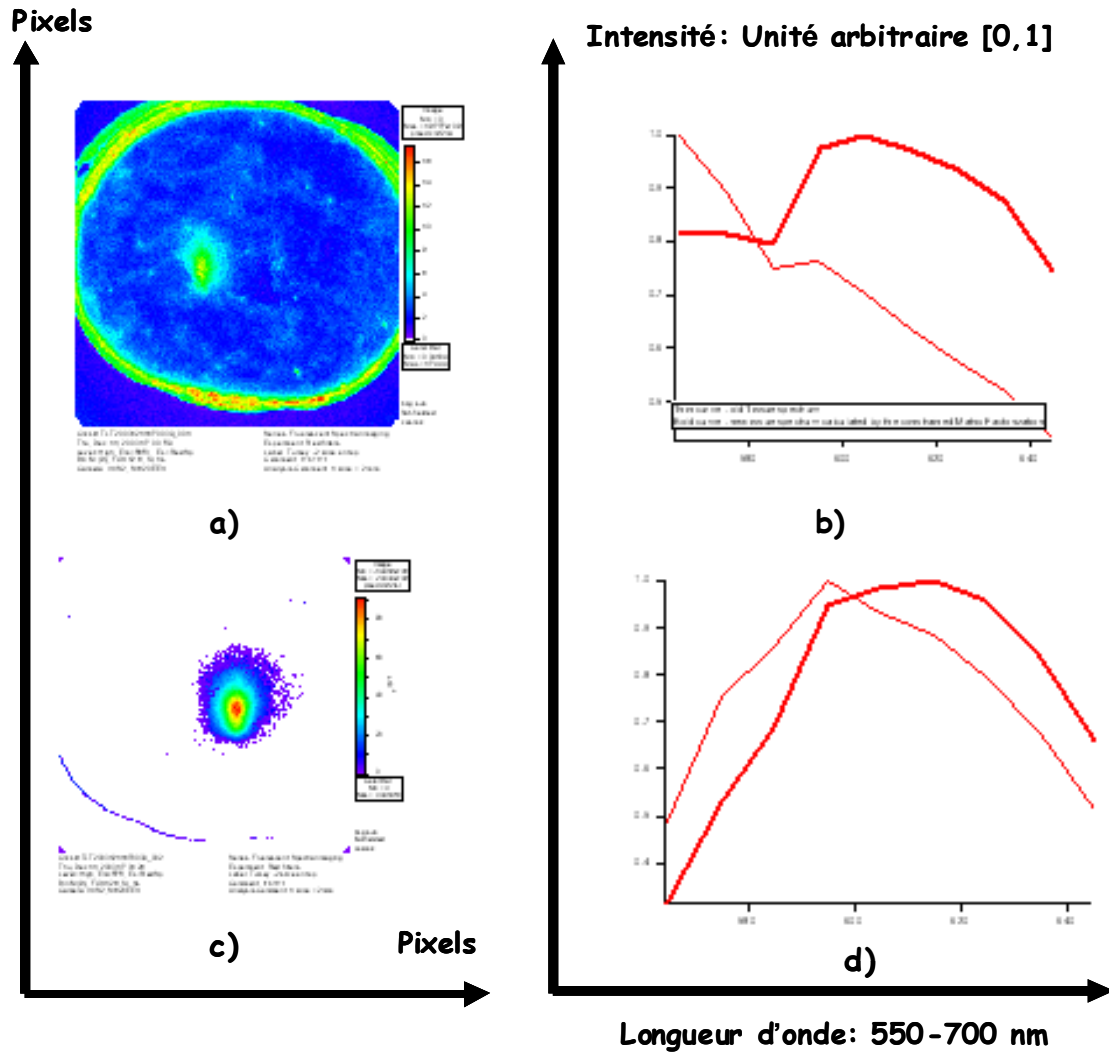


Figure 98 : Résultats fournis par la FMN : a) est la pondération de l'auto fluorescence du tissu ; b) représente le spectre d'auto fluorescence du tissu tel qu'il a été mesuré (courbe en caractère fin) et le spectre d'auto fluorescence du tissu (courbe caractère gras) restitué par la FMN ; c) représente la pondération du marqueur DsRed ; d) représente le spectre original du DsRed (courbe en caractère fin) et le spectre du DsRed restitué par la FMN (courbe en caractère gras).

De même une DVS a été appliquée aux images brutes de la figure 88, correspondant à une profondeur de la source de 6mm. Les résultats sont donnés figure 99.

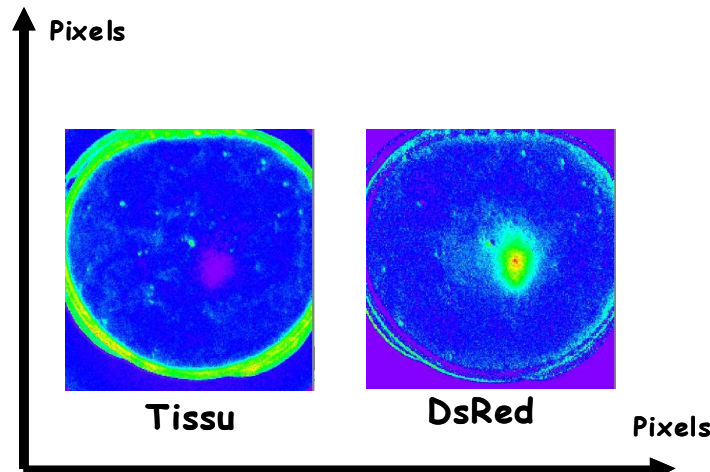


Figure 99 : Résultats fournis par une DVS pour la localisation du DsRed à une profondeur de 6mm.

De même que dans la figure 97, les résultats de la figure 99 montrent que les spectres originaux utilisés par la DVS ne permettent pas de séparer de manière satisfaisante l'émission du DsRed et l'émission d'auto fluorescence du tissu. Dans l'image de droite on retrouve à la fois les contributions du tissu et du marqueur DsRed.

Pour optimiser les résultats de la figure 99, on a aussi eu recours à l'utilisation d'un FMN. Les résultats obtenus (figure 100) montrent que les contributions respectives de l'auto fluorescence du tissu et du DsRed sont correctement restituées.

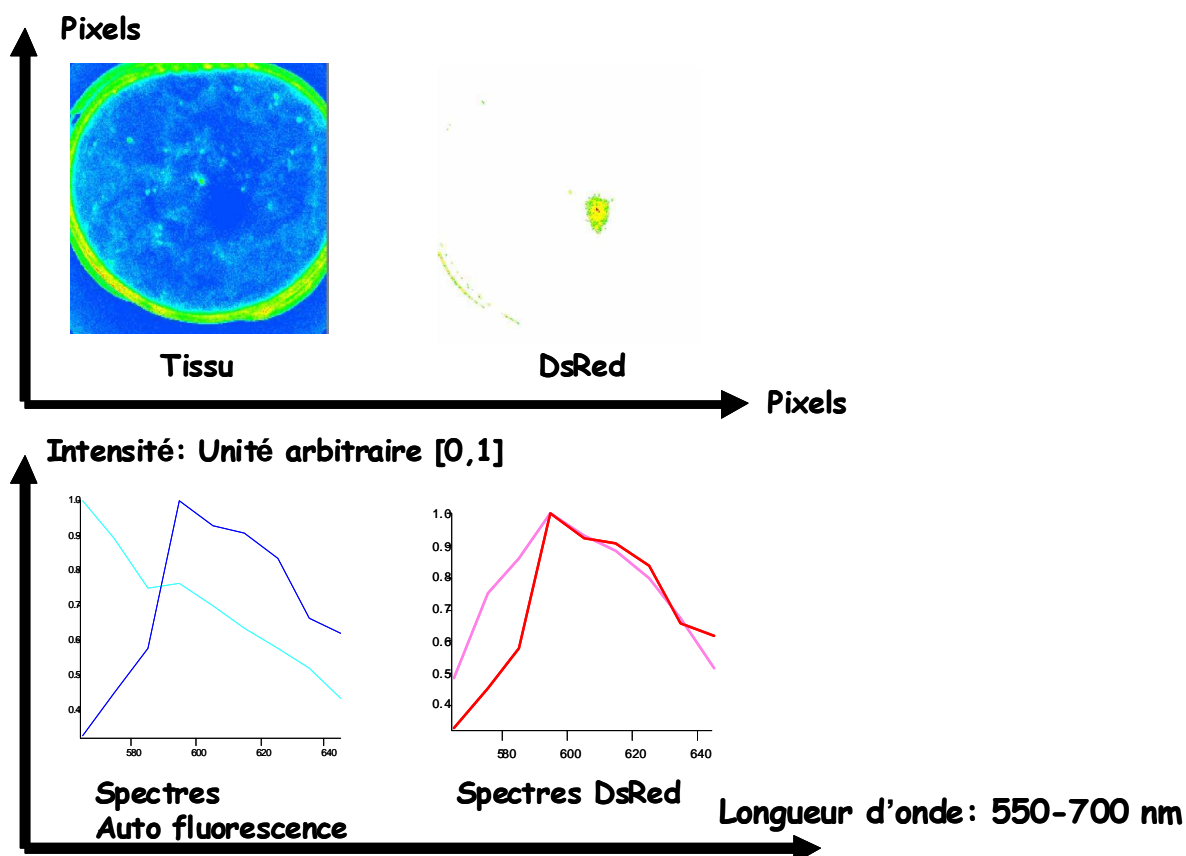


Figure 100 : Résultats fournis par une FMN pour la localisation du DsRed à une profondeur de 6mm.

Les deux images du haut représentent respectivement les pondérations des émissions du tissu et du marqueur DsRed. Le graphe en bas à gauche représente le spectre original d'auto fluorescence du tissu (courbe bleu clair) et celui fourni par la méthode FMN (courbe bleu foncé). Le graphe en bas à droite représente le spectre original du marqueur DsRed (courbe rose) et celui fourni par la méthode FMN (courbe rouge). De même, à partir des résultats expérimentaux représentés figure 90, une méthode DVS a été appliquée pour localiser l'émission des marqueurs GFP (4mm de profondeur) et DsRed (6mm de profondeur) chez la souris vivante. L'ensemble des résultats est donné figure 101.

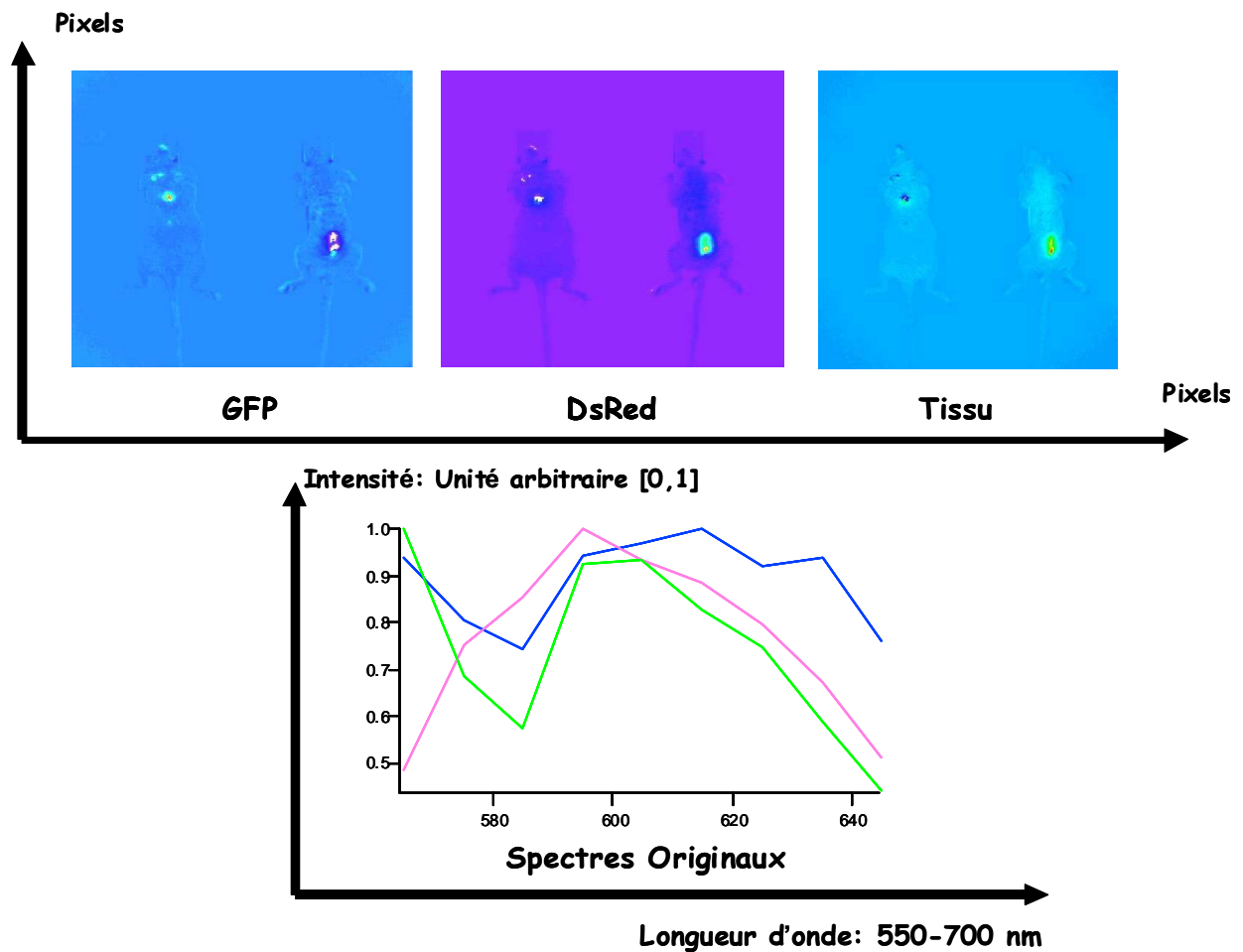


Figure 101 : Résultats fournis par une DVS à partir des spectres originaux.

Les trois images du haut représentent respectivement les pondérations des marqueurs GFP, DsRed et du tissu. Le graphe du bas représente les spectres originaux utilisés en entrée de la méthode DVS : la courbe verte est le spectre du GFP, la courbe rouge le spectre du DsRed et la courbe bleu le spectre d'auto fluorescence du tissu.

On note que seule la pondération du marqueur GFP est correctement restituée. Les pondérations relatives à l'auto fluorescence du tissu et au marqueur DsRed apparaissent à la fois dans les trois images. Pour pallier ce problème, une méthode FMN a été appliquée. L'ensemble des résultats est donné figure 102.

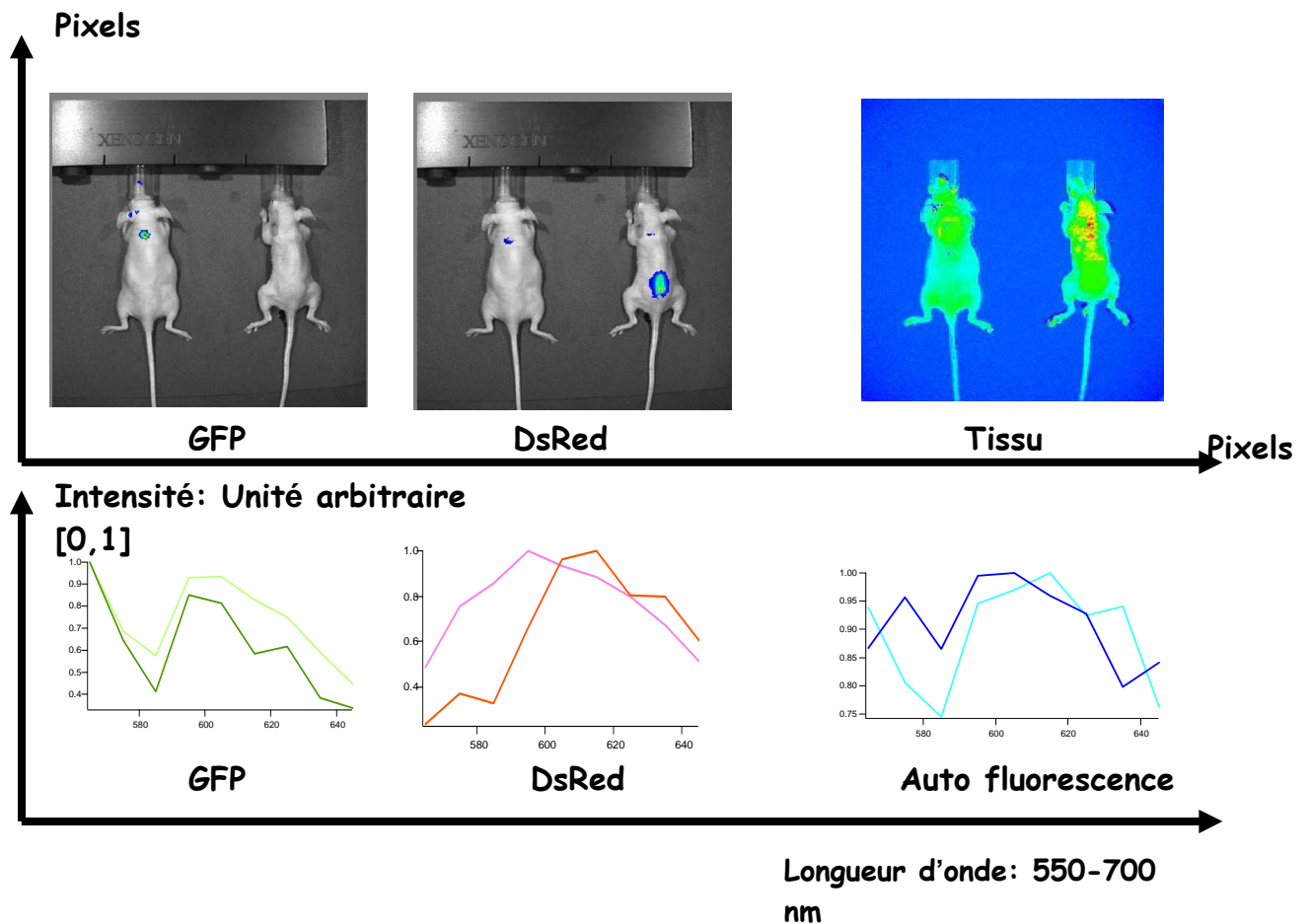


Figure 102 : Résultats fournis par une FMN pour la localisation des marqueurs GFP (profondeur 4mm) et DsRed (profondeur 6mm).

Les trois images du haut représentent les pondérations respectives du tissu et des marqueurs GFP et DsRed. Les graphes du bas représentent les spectres originaux et restitués par la FMN pour respectivement l'autofluorescence (courbe bleu clair et courbe bleu foncé), le marqueur GFP (courbe vert clair et vert foncé) et le marqueur DsRed (courbe rose et rouge).

La factorisation en matrices non négatives isole de manière satisfaisante l'autofluorescence des signaux d'émission du GFP et du DsRed. Comparée à la décomposition en valeurs singulières appliquée aux mêmes données, elle s'est révélée être la méthode la mieux appropriée. Elle est particulièrement bien adaptée à l'analyse spectrale puisque toutes les données sont non négatives.

V-5 Comparaison avec les méthodes numériques de reconstruction développées en imagerie neutronique

En imagerie neutronique comme en imagerie optique de fluorescence, l'image formée dans le plan de détection est le résultat d'un processus de mélange de l'information. L'objectif principal des méthodes de reconstruction est d'extraire les informations relatives à l'objet observé et de les transposer dans le plan objet c'est-à-dire d'inverser le processus de mélange de l'information.

En imagerie neutronique, le processus de formation de l'image est le résultat de la convolution de la source avec la fonction de transfert de l'ouverture. L'algorithme de base que l'on utilise généralement est le pseudo filtre de Wiener qui permet d'inverser l'opérateur de convolution tout en ajustant la fréquence de coupure ε du

filtre (93) de manière à sélectionner uniquement les fréquences relatives à l'objet observé.

En imagerie optique moléculaire de fluorescence, on obtient une série d'images, chacune d'entre elles correspondant à une longueur d'onde spécifique. Le processus de formation de cette série d'images est le résultat d'une superposition de signaux et l'opérateur associé est représenté par une matrice A dite de mélange (113) dans laquelle chaque vecteur colonne représente la signature spectrale d'un objet intervenant dans le phénomène observé. Pour restituer les contributions de chaque acteur du mélange, il faut inverser la matrice A et l'algorithme de base utilisé est la décomposition en valeurs singulières (DVS) de la matrice A dans laquelle on fixe un seuil γ chargé de séparer les valeurs propres significatives de celles qui ne le sont pas. Ce seuil γ joue exactement le même rôle que la fréquence de coupure ε dans le filtre de Wiener. Parce que ε et γ varient localement dans la mesure, le pseudo filtre de Wiener et la DVS ne restituent pas toujours de manière satisfaisante l'objet observé. Une source supplémentaire d'erreur en imagerie optique moléculaire de fluorescence, provient du fait que les signatures spectrales des objets telles qu'elles apparaissent dans la mesure sont souvent très différentes de celles qui figurent dans la matrice de mélange A . Pour pallier ces problèmes, j'ai développé de nouvelles techniques basées sur les mêmes approches (Wiener pour l'imagerie neutronique et DVS pour l'imagerie optique de fluorescence) et dans lesquelles, respectivement, le seuil γ pour la DVS et la fréquence de coupure ε pour le filtre de Wiener sont ajustés localement grâce à l'utilisation d'une analyse multi résolution.

En imagerie optique moléculaire de fluorescence, les localisations et les contributions des différents constituants apparaissant dans le phénomène observé ont été obtenues grâce à une méthode FMN. La précision des résultats est significativement supérieure à celle fournie par la DVS. L'avantage d'une telle méthode dite de «déconvolution aveugle», est qu'elle restitue à la fois les spectres des signaux intervenant dans la matrice A et leurs contributions respectives. Enfin, quand la résolution spectrale est suffisante, l'analyse multi résolution couplée à la FMN ou la DVS permet de déterminer de manière plus précise les contributions respectives des différents constituants du mélange car elle exploite mieux les dis similarités entre spectres.

VI- Conclusion et perspectives

L'imagerie d'objets peu émissifs et de petites dimensions constitue un sujet d'intérêt croissant dans de nombreux domaines tels que la physique des particules, la physique des plasmas, l'imagerie satellitaire, les biotechnologies, la physique des matériaux,....

Les techniques d'imageries présentées dans ce document, *imagerie neutronique et imagerie optique de fluorescence*, sont très appréciées par les communautés de la Fusion par Confinement Inertiel et de l'Instrumentation Médicale. Pour ces imageries, nous avons développé les spécificités de l'instrumentation et les techniques d'analyse numérique qui permettent d'obtenir une résolution spatiale Δs_{obj} en adéquation avec la taille de l'objet étudié. D'une manière générale, la résolution spatiale Δs_{obj} que l'on obtient dans l'objet reconstruit, est supérieure à Δs_{exp} , la résolution spatiale fournie par le dispositif d'imagerie.

Les objectifs du travail présenté ici et faisant l'objet de la thèse, étaient, pour les deux domaines d'application étudiés, d'une part d'identifier et de modéliser les paramètres influant sur Δs_{exp} pour l'optimiser, d'autre part de développer des méthodes numériques d'analyse de données et de reconstructions capables de restituer une résolution dans le plan objet Δs_{obj} la plus proche possible de celle fournie par le dispositif d'imagerie Δs_{exp} .

Nous avons vu que les paramètres principaux conditionnant Δs_{exp} sont la quantité d'information recueillie au niveau du système de détection, le rapport signal sur bruit et la taille des pixels du détecteur. Dans le chapitre III, nous avons modélisé ces différents paramètres, puis estimé la résolution expérimentale Δs_{exp} résultante pour tous les dispositifs d'imagerie utilisés [FCI: 14,15], [Imagerie Moléculaire: 17]. Dans le cas de l'*imagerie neutronique*, on doit tenir compte en plus de la géométrie et de l'épaisseur du diaphragme qui est une source supplémentaire de dégradation de la résolution spatiale. Plus précisément, nous avons optimisé la géométrie du diaphragme et la structure du système de détection enregistrement, conduisant à des améliorations notables de Δs_{exp} [FCI: 15,18].

Dans les chapitres IV et V, nous avons développé des méthodes spécifiques de reconstruction, réduisant l'écart entre Δs_{obj} et Δs_{exp} , grâce à l'utilisation de techniques mathématiques telles que : la « *factorisation en matrices non négatives* » et l'« *analyse multi résolution* » [FCI: 20], [Imagerie Moléculaire: 31].

- La « *factorisation en matrices non négatives* » (FMN) a été utilisée en *imagerie optique de fluorescence* pour localiser et quantifier l'émission de fluorophores dans des tissus vivants. Une telle méthode permet de décomposer le signal de mesure en termes de composantes linéairement et statistiquement indépendantes. Plus précisément, en supposant que chacune de ces composantes est mono dimensionnelle et que le nombre de composantes est égal à la dimension de l'observation, on retombe sur un modèle du type $X=A.C$. La FMN permet d'obtenir à la fois les spectres présents dans l'image de départ X ainsi que leurs pondérations. L'avantage d'initialiser la FMN par la technique de « *décomposition en valeurs singulières* » (DVS), à partir d'une bibliothèque de spectres originaux, permet, en plus, de déterminer le nombre de constituants de la matrice de mélange A , lequel est égal au nombre des valeurs singulières jugées les plus significatives.

Des résultats importants ont été soulignés dans le mémoire pour la méthode FMN. En particulier, l'initialisation de cette méthode est un facteur décisif pour l'optimisation de la vitesse de convergence de l'algorithme et la précision du résultat obtenu. Ainsi l'utilisation d'une décomposition en ondelettes, couplée à une DVS, pour initialiser la FMN permet de diviser le nombre d'itérations par deux et d'améliorer la précision.

Dans le domaine de l'*imagerie neutronique*, la FMN est aussi efficace du fait que la formation de l'image I peut être considérée comme étant le résultat d'une transformation linéaire de l'image de l'objet O . Plusieurs réflexions ont été menées au travers de publications [FCI: 32,33] sur la détermination de la transformation inverse permettant de passer de I à O , en utilisant la technique DVS.

- L'« *analyse multi résolution* » a été utilisée pour développer une méthode de reconstruction spécifique à l'*imagerie neutronique* basée sur la mise au point d'un filtre adaptatif. L'analyse multi résolution, couplée à l'algorithme de DONOHO s'est révélée être un outil très performant de débruitage et, grâce à sa capacité à décomposer une image en plusieurs blocs indépendants à plusieurs niveaux de résolution, a permis d'ajuster localement la fréquence de coupure du filtre en fonction du niveau de bruit et ainsi d'améliorer la précision de la reconstruction par un facteur 3.5. De même, en « *imagerie optique de fluorescence* », quand la résolution spectrale est suffisante (spectrofluoromètre), l'utilisation de l'*analyse multi résolution* a permis de déterminer de manière plus précise les contributions des différents constituants intervenants dans le phénomène observé, car elle exploite mieux les dis similarités entre spectres.

Enfin deux points importants sont à souligner : le premier mentionné dans le chapitre III est qu'en *imagerie neutronique*, l'image de mesure peut être interprétée comme une superposition de signaux, ce qui rend la problématique similaire à celle rencontrée en *imagerie optique moléculaire de fluorescence*. Le deuxième point développé dans le chapitre IV est que le *filtre de Wiener* couplé à l'*analyse multirésolution* constitue un outil extrêmement efficace de débruitage.

Compte tenu de ces deux points et des résultats précédents, il conviendrait de mener deux axes de recherche. Un de ces axes de recherche serait d'étudier le couplage du *filtre de Wiener* avec la *décomposition en valeurs singulières* et d'utiliser la complémentarité de ces deux techniques : la *décomposition en valeurs singulières* pour sa capacité à résoudre des problèmes inverses spatialement variant, le *filtre de Wiener* pour sa capacité à réduire le niveau de bruit. Le deuxième axe de recherche serait d'étudier de manière plus approfondie l'amélioration apportée par le couplage entre *analyse multi résolution* et DVS/FMN, ainsi que son application dans les domaines de l'*imagerie optique de fluorescence* et de l'*imagerie neutronique*. Une voie d'optimisation à l'étude est d'utiliser la DVS pour son efficacité en présence de données bruitées et de la coupler à une analyse multi résolution [Imagerie Moléculaire: 32,33]. La *décomposition en valeurs singulières* de la matrice des résultats expérimentaux jouerait alors le rôle d'un filtre dans lequel on fixerait un seuil γ chargé de séparer les valeurs singulières significatives de celles qui ne le sont pas et qui pourrait être interprété comme un niveau de bruit en dessous duquel aucune perturbation ne serait prise en compte. L'*analyse multi résolution* permettrait d'ajuster localement dans l'image brute la valeur de ce seuil.

Toutes les méthodes de reconstruction présentées dans ce mémoire ont été mises au point et exploitées largement sur plusieurs grandes installations existantes. En ce qui concerne l'*imagerie neutronique*, les algorithmes ont été mis au point et validés sur PHEBUS (LIMEIL-France) et ont été exploités sur OMEGA (LLE-USA) dans la période 1993-2001. Depuis les équipes du CEA ont continué leurs efforts d'optimisation de la résolution spatiale en utilisant soit un « pinhole », soit une ouverture annulaire [FCI: 34,35]. Pour l'*imagerie optique de fluorescence*, les algorithmes ont été mis au point et validés au travers d'expériences menées à XENOGEN (San-Francisco, USA), entreprise spécialisée dans l'imagerie optique moléculaire bio photonique in vivo chez le petit animal.

Les domaines de la *fusion par confinement inertiel* et de l'*astrophysique*, disciplines reposant sur des problématiques similaires, ainsi que celui de l'*imagerie optique moléculaire* sont des domaines en constante évolution dont les enjeux sont très importants pour notre civilisation. Les applications potentielles de l'*imagerie optique moléculaire* dans la caractérisation de pathologies spécifiques et la recherche de thérapies adaptées, les challenges posés par la FCI (et le diagnostic d'*imagerie neutronique*) pour qu'elle puisse être retenue pour la production d'énergie, impliquent un nombre encore important de problèmes à résoudre ou à optimiser notamment en ce qui concerne les systèmes d'imagerie associés dans le but d'améliorer la résolution spatiale et de développer de nouvelles techniques d'analyse de données. Les progrès dans la recherche et le développement de solutions dans cette voie dépendront de la créativité et du travail de chercheurs issus de différentes communautés scientifiques, chaque communauté devant comprendre les limites imposées par les autres.

VII- Bibliographie

VII-1 Fusion par confinement inertielle

- 1- S. Atzeni, J. Meyer ter vehn, « The physics of inertial fusion », clarendon press-oxford, Oxford, 2004.
- 2- S. Gladstone, R.H. Lovberg, "Controlled Thermonuclear Reactions", Van Nostrand, New-York, 1960.
- 3- J.F Delpech, E. Fabre, R. Pellat, "Le confinement inertial par laser, une approche de la fusion thermonucléaire controlée", Journal de physique, colloque C3, Tome 41, PP 77-89, Avril 1980.
- 4- M.Andre, C. Bayer, M. Decroisette, C. Deutsch, D. Juraszek, B. Le Garrec, A. migus, "La fusion par confinement inertial", Chapitre 2, "La fusion de la recherché fondamentale à la production d'énergie", rapport sur la science et la technologie, numero 26, publié à l'accadémie des sciences sous la direction de Guy Laval, 2007.
- 5- J.D. Lawson, « Some criteria for a useful thermonuclear reactor », memo de l'établissement de recherche atomique d' Harwell, GP/R 1807, 1955.
- 6- C. Bayer, D. Juraszek, "Physique des plasmas thermonucléaires: La fusion par confinement inertial", rapport CEA/DAM, numero CEA-R-5988, 2001.
- 7- P.W; McKenty and all, "Direct-drive cryogenic target implosion performance on OMEGA", Phys. Plasmas., 11 : 2790, 2004.
- 8- J. Lindl, « The physics basis for ignition using indirect-drive targets on the national Ignition facility », Phys. Plasmas., 11 :339, 2004.
- 9- M. Tabak, J. Hammer, M.E. Glinsky, W.L. Kruer, S.C. Wilks, J. Woodwoth, E.M. Campbell, M;D. Perry, " Ignition and high gain with ultrapowerful lasers", Phys. Plasmas., 1 : 1626, 1993.
- 10- R. Betti, C. Zhou, K. Anderson, L. Perkins, W. Theobald, A. Solodov, Phys.Rev.Lett, 98, 2007.
- 11- B. Canaud, M ; Temporal, « High gain shock ignition of direct-drive ICF targets for the laser MegaJoule », New Journal of Physics 12, 2010.
- 12- C. Le Blanc, C. Felix, J.C Lagron, N. Forget, Ph. Hollander, A.M. Sautivet, C. Sauteret, F. Amiranoff, A. Migus, "Le laser Petawatt au LULI: un défi technologique ?", Journées des Phénomènes ultra-rapides, Strasbourg, Octobre 2003.
- 13- K. Oades, A. Evans, G. Slark, J. Foster, R. Eagleton, E. Clark, "Target diagnostics for the future AWE Orion laser facility", Review of Scientific Instruments, Vol 75, Num 10, October 2004.
- 14- S. Garanin, G.A. Kirillov, G.G Kochemasov, L.S. Mkhitarian, V.M. Murugov, S.A. Sukharev, N.V. Zhidkov, "Investigations on inertial confinement fusion at the Russian Federal Nuclear Center VNIIEF "Plasma Phys. Control. Fusion 45, A471-A476, 2003.
- 15- M. Dunne, Nat. Phys., 2 :2, 2006.
- 16- E.I. Moses, "Ignition on the National Ignition Facility: a path towards inertial fusion energy", Nucl. Fusion 49, 2009.
- 17- D. Blossier, C. Butaye, **O. Delage**, N. Ducrocq, R. Galli, J-P Garçonnet, C. Labbe, "Les diagnostics nucléaires", paragraphe 4.3.5, "la fusion thermonucléaire inertielle par laser", partie 3, volume 1, édité par R. Dautray, J.P Watteau, Avril 1995.

- 18- M.J Moran, S.W; Haan, S.P. Hatchett, N. Izumi, J.A. Koch, R.A. Lerche, "Energy-resolved neutron imaging for inertial confinement fusion", Review of Scientific Instrument", volume 74, number 3, PP 1701-1704, March 2003.
- 19- G.P Grim and al, "Neutron Imaging for Inertial Confinement Fusion Experiments", SPIE proceedings, vol 6707, 2007.
- 20- K.A. Nugent, B. Luther-Davies, "Application of penumbral imaging to thermonuclear neutrons", J. appl. Phys 58(7), PP 2508-2515, 1985.
- 21- D. Ress, R.A. Lerche, R. J. Ellis, S.M Kane, K A Nugent, Rev Sci Instrum, vol 59, 1988.
- 22- J-P Garçonnet, **O. Delage**, D. Schirmann, A. Bertin, G. Grenier, B. Guilpart, A. Rouyer, " Neutron Penumbral Imaging of Confinement Fusion targets", Laser and Particle Beams vol 12 Num 3, PP 563-571, 1994.
- 23- **O. Delage**, J-P Garçonnet, D. Schirmann, « Neutron Penumbral imaging of inertial confinement fusion targets at Phébus », Rev Sci Instrum 66 (2) 1995.
- 24- **O. Delage**, J-P Garçonnet, C-T Lê, « Image processing in neutron penumbral imaging », SPIE proceedings, vol 2564, PP 242-251, 1995.
- 25- D. Ress, " Design of thick aperture for high resolution neutron penumbral imaging", IEEE trans on nuclear science, vol 37, num 2, PP 155-160, 1990.
- 26- **O. Delage**, B. Savale, H.H Arsenault, "The aperture design and the numerical reconstruction techniques requirements to achieve a high resolution for imaging the fusion neutrons in ICF experiments", SPIE proceedings, 1998.
- 27- **O. Delage**, B. Savale, C-T Lê, H.H Arsenault, " Coded imaging of fusion neutrons in inertial confinement fusion experiments", (Invited paper), ICAPT proceedings, 1998.
- 28- **O. Delage**, R.A Lerche, T.C Sangster, H.H Arsenault, « SIRINC : A code for assessing and optimizing the neutron imaging diagnostic capabilities in inertial confinement fusion experiments », Rev Sci Instrum, Vol 72 Num 1, 2001.
- 29- **O. Delage**, C-T Lê, B. Savale, H.H Arsenault " Quadratic Volterra filters and wavelet thresholding, two new approaches to noise reduction in images degraded by multiplicative signal-dependant noise", SPIE proceedings, vol 3164, PP 49-58, 1997.
- 30- L.I Rudin, S. Osher, E. Fatemi, " Non linear total variation based noise removal algorithms", Physica D, Vol 60, Num 1-4, PP 259-268, 1992.
- 31- L.B Lucy, "An iterative technique for the rectification of observed distributions", the astronomical Journal, Vol 79, Num 6 P 745, 1974.
- 32- R.H Richardson, "Bayesian Based Iterative Methods of Image restoration", Journal of the Optical Society of America, Vol 62, Num 1, P 55, 1972.
- 33- B. Savale, **O. Delage**, H.H Arsenault, "Modified Richardson- Lucy Algorithm, a new approach in images degraded by multiplicative signal dependant noise", SPIE proceedings, 1998.
- 34- K.A. Nugent, "Coded imaging of thermonuclear neutrons", rev.Sci.Instrum, vol 59, num 8, 1988.
- 35- H.H Arsenault, M. Denis, " Image processing in signal-dependant noise", Can J. Phys, vol 61, PP 309-317, 1983.
- 36- Q. Dang, "The restoration of neutron penumbral images with adaptive iterative algorithm for signal dependant noise" Thesis, Université Laval, Québec, 1996.
- 37- D.L Donoho, " Denoising by soft thresholding", IEEE Trans Info Theory, 41, PP 613-627, 1995.
- 38- R.K Fisher and all, " High resolution neutron imaging of laser fusion targets using

- bubble detectors", *Physics of Plasma*, vol 9, Num 5, 2002.
- 39- R. Lerche, N. Izumi, R.K. Fisher, J.L. Bourgade, O. Delage, P. Jaanimagi, T.C. Sangster, " Bubble Detectors for High-Resolution, Low-Magnification Neutron Imaging", 43rd Annual Mtg of the American Physical Society Div of Plasma Physics", Long Beach, CA, Oct 29-Nov 2, 2001.
 - 40-G.P. Grim and all, " Neutron Imaging for Inertial Confinement Fusion Experiments", *Proc of SPIE*, Vol 6707, "Penetrating Radiation Systems and Applications VIII", 2007.
 - 41-C.R. Christensen, Cris W. Barnes, G.L. Morgan, M. Wilke and D.C. Wilson, " First results of pinhole neutron imaging for inertial confinement fusion", *Rev Sci Instrum*, Vol 74, Num 5, PP 2960-2964, May 2003.
 - 42-L. Disdier, A. Rouyer, I. Lantuejoul, O. Landoas, J.L Bourgade, T.C. Sangster, V.Y. Glebov, R.A. Lerche, «Inertial confinement fusion neutron images », *Physics of Plasmas*, 13, 2006.
 - 43-M.C Ghilea, T.C. Sangster, D. Meyerhofer, R.A. Lerche, L. Disdier, « Aperture tolerances for neutron-imaging systems in inertial confinement fusion », *Review of Scientific Instruments*, 79, 2008.

VII-2 Imagerie moléculaire

- 1- Tarik F. Massoud, Sanjiv S. Gambhir, Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light", *Review, Genes and development*, 17:545-580, 2003.
- 2- V. Quaresima, S.J. Matcher, and M. Ferrari, "Identification and quantification of intrinsic optical contrast for near-infrared mammography" *Photochem Photobiol*, 67(1): PP 4-14, 1988.
- 3- S; Fantini, et al, "Frequency-domain optical mammography: edge effects corrections ", *Med Phys*, 23(1), PP 149-57, 1996.
- 4- R.R Alfano and al, "Time-resolved and non linear optical imaging for medical applications", *Ann NY Acad Sci*, 838: PP 14-28, 1998.
- 5- J. Rao, A. Dragulescu-Andrasi and H. Yao, "Fluorescence Imaging in vivo: recent advances", *Curr opin Biotechnol*, 18(1): PP 17-25, 2007.
- 6- B. Ballou, G.W Fisher, A?S Waggoner, D.L. Farkas, J.M. reiland, R. Jaffe, R.B Mujumdar, S.R. Mujumdar and T.H Hakala, "Tumor labeling in vivo using cyanine-conjugated monoclonal antibodies", *Cancer ImmunolImmunother*, 41(4): PP 257-263, 1995
- 7- B.Ballou, G.W. Fisher, J.S; deng, T.R. hakala, M. Srivastava and D.L. farkas, "Cyanine fluorochrome labeled antibodies in vivo: assessment of tumor imaging using Cy3, Cy5, Cy5.5 and Cy7, *Cancer Detect Prec*, 22(3): PP 251-257, 1998.
- 8- O.Shimomura, F.H. Johnson and Y. Saigaheimet, "Extraction, purification and properties of aequorin, a bioluminescent protein from the luminous hydromedusan, aequorea", *J cell Comp Physiol*, 59: PP 223-239, 1962.
- 9- D.C Prasher, V.K . Eckenrode, W.W Ward, F.G. Prendergast and M;JCormier, "Primary structure of the aequorea victoria green-fluorescent protein", *gene*, 111(2): PP 229-233, 1992.
- 10- M. Chalfie, Y. Tu, G. Euskirchen, W.W. Ward and D.C Prasher, "Green Fluorescent protein as a marker for gene expression", *Science*, 263(5148): PP 802-805, 1994.
- 11- S. Inouye and F.I Tsuji, "Aequorea green fluorescent protein, expression of the gene and fluorescence characteristics of the recombinant protein", *FEBS lett*, 341(2-3): PP 277-280, 1994.

- 12- M.V Matz, A.F. Fradkov, Y.A. Ilyasov, A.P. Savitsky, A.G. Zaraiski, M.L. Markelov, S.A. Lukyanov, "Fluorescent proteins from nonbioluminescent anthozoa species.", *Nat Biotechnol*, 17(10): PP 969-973, 1999.
- 13- A.F Fradkov, Y. Chen, L.Ding, E.V. Barsova, M.V. Matz and S.A. Lukyanov, "Novel fluorescent protein from *Scleractinia* coral and its mutants possesses a unique far-red fluorescent", *FEBS Lett*, 479(3): PP 127-130, 2000.
- 14- S. Bhaumik, and S.S Gambhir, "Optical imaging of renilla luciferase reporter gene expression in living mice", *Proc Natl Acad Sci USA*, 99(1): 377-382, 2002.
- 15- M.A. Cenci and al, "Animal models of neurological deficits: how relevant is the rat?", *Nat Rev Neurosci*, 3(7): PP 574-579, 2002.
- 16- W.Long, M. Vernon, « Optical molecular imaging. Time domain advantages with Explore Optix », rapport interne, Institut National d'Optique, Quebec, 2004.
- 17- T.L. Troy, O. Delage, B.W. Rice, « assessment of the detection sensitivity of bioluminescent and fluorescent reporters in small animal models », OSA Biomedical Topical meetings, Miami beach, April 2004.
- 18- J. Svensson and S. Andersson-Engels, « Modeling of spectral changes for depth localization of fluorescent inclusion », *Optics Express*, vol 13, num 11, 2005.
- 19- Vasilis Ntziachristos, « Concurrent diffuse optical tomography spectroscopy and magnetic resonance imaging of breast cancer », « Theory of photon diffusion », PP 9-30, Thesis, University of Pennsylvania, 2000.
- 20- B.W. Rice, M.D. Cable, M.B. Nelson, "In vivo imaging of light emitting probes", *Journal of biomedical Optics*, Vol 6, Num 4, 2001.
- 21- Jean-François Cardoso, "Analyse en composantes indépendantes", CNRS/ENST, 2007.
- 22- Nirmal Keshava, « A survey of spectral unmixing algorithms », *Lincoln Laboratory Journal*, Vol 14, Num 1, 2003.
- 23- D. Heslop, T.von Döbeneck, M. Höcker, "Using non negative matrix factorization in the unmixing of diffuse reflectance spectra", *Marine Geology* 241, PP 63-78, 2007.
- 24- Suvrit Sra, "Block Iterative Algorithms for Non negative Matrix Approximation", Technical Report Num 176, Max Planck Institute for Biological Cybernetics, 2008.
- 25- Daniel D. Lee, H. Sebastian Seung, "Algorithms for non-negative matrix factorization", *Advances in neural information processing systems* 13, PP 556-562, MIT press, 2001.
- 26- C.J.Lin, "Projected Gradient Methods for Non negative Matrix Factorization", Tech report Information and support service ISSTECH-95-013, Department of Computer Science, National Taiwan University, 2005.
- 27- Dimitri P. Bertsekas, "Non Linear Programming", Athena Scientific, Belmont, MA 02178-9998, second edition, 1999.
- 28- Dimitri P. Bertsekas, "On the Goldstein-Levitin-Polyak gradient projection method", *IEEE Transactions on Automatic Control*, 21: PP 174-184, 1976.
- 29- Paul H. Calamai, Jorge J. Moré, "Projected gradient methods for linearly constrained problems", *Mathematical Programming* 39, PP 93-116, 1987.
- 30- Jiang Li, "Wavelet Based Feature Extraction for Improved Endmember Abundance Estimation in Linear Unmixing of Hyperspectral Signals", *IEEE Trans on Geosciences and remote sensing*, vol 42, Num 3, 2004.
- 31- O. Delage, « An Update on advanced processing for fluorescent spectral imaging analysis », Technical Report, Xenogen Corporation, 2004.

- 32- R. Kakarala, P.O Ogunbona, "Signal analysis using a multiresolution form of the singular value decomposition", IEEE Transactions on Image Processing, vol 10, Num 5, May 2001.
- 33- Z. Hou, "Adaptive singular decomposition in wavelet domain for image denoising", Pattern Recognition 36, PP 1747-1763, 2003.

VIII ANNEXES

VIII-A La FCI en France et dans le monde

1) La FCI en France. Etat des lieux

Le CEA a participé activement au développement des lasers de puissance. C'est dans le centre de Limeil Valenton que les lasers de puissance ont été implantés et développés depuis 1963. En 1973, les quatre chaînes du laser C6 (100J par chaîne, 3.5ns) entrent en service. Il est décidé de réaliser une première expérience multifaisceaux en géométrie cylindrique destinée à étudier le comportement d'une cible. Pour réaliser des expériences d'interaction, le CEA réalisa en 1974 le laser de puissance picoseconde P102. Il comprenait 2 faisceaux : 1 faisceau en impulsion courte délivrant 35TW, 1 faisceau en impulsion longue type C6. Avec la mise en service de P102 en 1976, les premières expériences d'implosion de microballons remplis de DT ont été réalisées. Le laser OCTAL avec ses huit faisceaux (1TW en 50ps) permettaient d'obtenir 10^7 neutrons par l'implosion d'un microballon éclairé directement par les faisceaux laser (1978). Il apparaît très vite que le concept d'implosion indirecte permet d'accéder à une meilleure symétrie d'implosion. Le microballon est placé dans une cavité et il est implosé par le rayonnement X produit par l'interaction des faisceaux lasers avec les parois de la cavité. Les premières expériences en attaque indirecte sur OCTAL ont permis d'obtenir une émission de 5.10^7 neutrons en 1983. Le laser Phébus a été mis en service en 1986. Il comportait deux faisceaux laser à $0.53\mu\text{m}$ avec une énergie de 6kJ par faisceaux. La possibilité de convertir la lumière en UV (6kJ à $\lambda=0.35\mu\text{m}$) en 1989 a permis de réaliser des implosions en régime d'ablation avec des densités finales du DT allant jusqu'à $10\text{g}/\text{cm}^3$. A Bordeaux, la ligne d'intégration laser (LIL) mise en service en 2002 est le prototype à l'échelle 1 de l'une des 30 futures chaînes laser du projet LMJ (Laser Mégajoule). Ce laser comporte 4 faisceaux et délivre une énergie de 30kJ en 1ns à $\lambda=0.35\mu\text{m}$. La LIL a permis d'obtenir une énergie de 9.5 kJ sur un faisceau en avril 2003, ce qui constitue un record mondial d'énergie en lumière ultraviolette. Cette performance battait le précédent record de 5kJ obtenu sur le laser NOVA (USA), un record que les Etats-Unis ont battu à nouveau avec 10kJ fin mai 2003.

Avec son projet « LULI 2000 », le LULI s'est porté vers une installation Petawatt pour continuer les résultats pionniers obtenus sur l'installation P102. L'intérêt scientifique que soulève ces nouvelles installations laser de très haute énergie et haute densité de puissance repose sur les percées scientifiques obtenues dans l'interaction de la matière, donnant accès à de nouvelles sources de rayons X ou des sources de particules énergétiques et collimatées, et à des phénomènes nouveaux en régime relativiste avec des perspectives prometteuses de nouvelles applications. En termes de performance la chaîne Petawatt a été dimensionnée pour délivrer des impulsions de 400J en 400fs avec un spectre de 4nm soit une puissance crête de 1PW. Actuellement, La chaîne Petawatt délivre 150-200 J en 1ps.

2) La FCI dans le monde. Etats des lieux

Les lasers de puissance ont été développés dans d'autres pays, principalement aux au Royaume Uni, aux Etats-Unis, au Japon et en Russie:

- Avec le laser Orion, l'«Atomic Weapons Establishment» combine des faisceaux laser en impulsions ns avec des faisceaux laser en impulsion subpicosecondes pour atteindre de très haute densité d'énergie dans les plasmas. L'objectif est d'atteindre des densités d'énergie de l'ordre de $10^{21} \text{ W}/\text{cm}^2$. Chacun de faisceaux

en impulsion ns délivre 500J. Chacun des faisceaux subpicosecondes délivre 500J en 500fs.

- Aux USA, les grands lasers de puissance pour la FCI ont été implantés dans deux grands laboratoires :
 - o A Livermore, le « Lawrence Livermore National Laboratory » (LLNL) disposait du laser NOVA qui était le laser le plus puissant jusqu'en 1995. Ce laboratoire se consacrait à l'étude de l'implosion en attaque indirecte. Comme Phébus cette installation a été fermée en 1999. Le laser délivrait 30kJ en 1ns à $\lambda=0.35\mu\text{m}$. Ses dix faisceaux étaient disposés en deux fagots opposés pour entrer par les deux trous d'une cavité cylindrique. Le « national Ignition Facility » (NIF) avec 1.5MJ en 192 faisceaux a été mis en service en 2009.
 - o A Rochester, le « Laboratory of Laser Energetics » a mis en service en 1995 le laser OMEGA UPGRADE, qui était jusqu'en 2009 le laser le plus puissant. Ses 60 faisceaux sont répartis uniformément dans l'espace pour assurer un éclairage isotrope (1%) de la cible. Il délivre une énergie de 30kJ en 1 à 2 ns avec une longueur d'onde de $0.35\mu\text{m}$. Ce laboratoire se consacre surtout à l'étude de l'implosion en attaque directe et il a obtenu une émission maximale de 10^{14} neutrons.
- Au Japon, le ILE (Institute of Laser Energetics) à Osaka dispose du laser Gekko XII : ses 12 faisceaux délivrent 10kJ à $0.35\mu\text{m}$. la disposition des faisceaux permet la réalisation d'expériences en attaque directe et indirecte. Les japonais ont obtenu des densités finales de 600g/cm^3 , et en attaque directe, ils ont égalé le LLNL avec 10^{13} neutrons dans les 4π .
- En Russie, depuis 1989, des expériences en attaque indirecte avec des cavités sphériques et cylindriques sont réalisées avec le laser « Iskra-5 » et ses 12 faisceaux délivrant une énergie totale de 30kJ en 0.3ns. La température radiative effective atteinte est de 170eV, la température du DT est de 1.5-4 keV avec une densité de gaz comprimé de $1\text{ à }2\text{ g/cm}^3$ et un flux de neutrons maximum dans les 4π de 2.10^{10} . Le projet « Iskra-6 », le successeur d' « Iskra-5 », a démarré en 1999 et a pour objectif d'atteindre l'allumage en attaque directe.
Le laser « Luch » qui est le premier module de 4 faisceaux laser de « Iskra-6 » est opérationnel depuis 2002. Une des chaînes de « Luch » utilise des impulsions femtosecondes et délivre une puissance de 1-2PW.

VIII-B Les projets de FCI par laser

L'objectif de la prochaine génération d'installations pour la FCI, en cours de construction, en France et aux Etats-Unis est d'obtenir la combustion du DT par laser avec des gains sur cibles d'environ 10 : l'énergie thermonucléaire dégagée doit être 10 fois supérieure à celle du laser, au niveau de la cible. Pour atteindre cet objectif, il faut disposer d'un laser d'énergie supérieure au MJ. Les deux grands projets qui devraient conduire à la combustion du DT, avec ce critère, sont :

- Aux USA, le « National Ignition Facility » (NIF) avec 1.5 MJ en 192 faisceaux opérationnel depuis 2009.
- En France, le « Laser Mégajoule » (LMJ) avec 1.8MJ en 240 faisceaux.

En parallèle le projet HIPER (High Power Laser Energy Research) est un projet de réacteur thermonucléaire approuvé par la commission européenne fin 2008 à Londres. Il vise à construire un prototype de réacteur nucléaire à fusion qui, comme le projet ITER, viserait à tester la faisabilité scientifique et technique de la fusion nucléaire initiée par laser comme nouvelle source d'énergie. Le principe consiste à dissocier les phases d'allumage et de compression de la cible en attaque directe, l'allumage de la cible étant basé sur le concept d'allumeur rapide (fast ignitor). Le concept d'allumeur rapide est un schéma alternatif pour la FCI, né à partir de l'apparition de nouveaux lasers ultra-intenses pouvant délivrer des énergies de l'ordre du kJ avec des durées de l'ordre de la picoseconde. Ce type de laser permettrait d'allumer une cible de DT précomprimée à des densités de quelques centaines de g/cm³ par un moyen classique, c'est-à-dire par un laser à impulsion plus longue. Ce projet, dirigé par le Professeur Mike Dunne du Rutherford Appleton Laboratory (UK), prévoit de coupler un laser à impulsion longue délivrant 200kJ en 5ns pour la compression de la cible avec un laser à impulsion courte délivrant 70kJ en 10ps pour le chauffage sélectif d'une partie du combustible. Le gain de fusion prévu est de 100 (Figure 103).

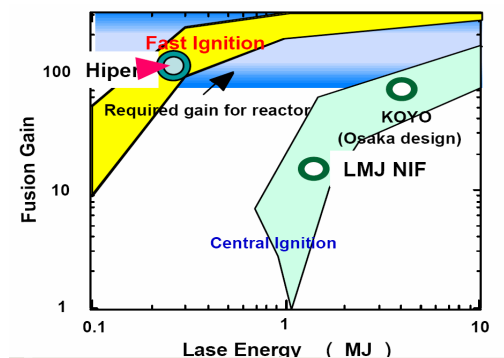


Figure 103 : Comparaison des gains de fusion entre « allumage central » à l'aide d'un laser à impulsion longue et « allumage rapide » au moyen d'un laser ultra-intense à impulsion courte.

Le problème crucial restant à résoudre est le transport des électrons relativistes dans un plasma dense. En effet, il a été montré expérimentalement qu'à des éclaircissements de l'ordre 10^{19} , 10^{21} W/cm², comme c'est le cas avec cette nouvelle classe de lasers ultra-puissants, une fraction notable (30%) de l'énergie laser est transférée à des électrons de haute énergie (1MeV), formant un faisceau divergent dirigé vers l'avant. La divergence du faisceau d'électrons est grande si celui-ci prend naissance loin du DT comprimé. Dans ce cas, les électrons créés vont « arroser » une région plus grande que celle du point chaud à créer (figure 104).

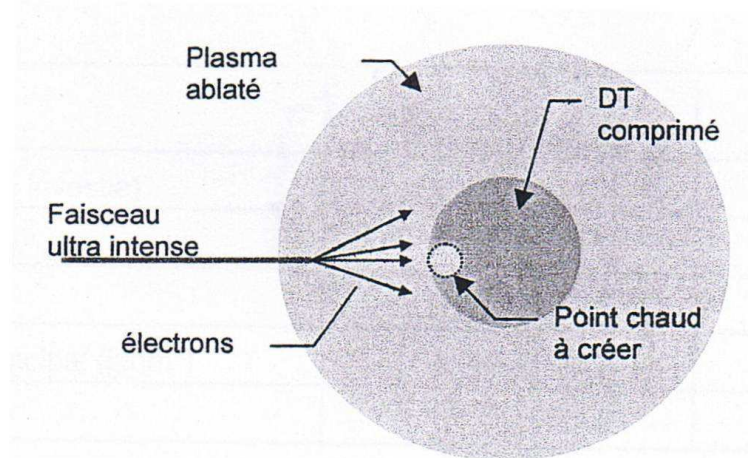


Figure 104 : Les électrons créés par un faisceau laser ultra intense.

Cependant, compte tenu des nouvelles propriétés de ces faisceaux lasers intenses, on a observé qu'un faisceau de forte intensité ($> 10^{18}$ W/cm²) se propageant dans un plasma sous critique l'expulsait par l'action de la force pondéromotrice. Le faisceau creuse ainsi dans le plasma sous critique une sorte de canal qui peut faciliter le passage d'un autre faisceau.

Cependant, un point peu favorable à ce genre de réacteur, est la fréquence faible des tirs.

Le projet PETAL sur le site du CEA/CESTA dont l'objectif est de coupler un faisceau multiPW (3.5kJ en [0.5-10]ps) au LMJ dans la même chambre d'expérience a été intégré dans le projet HIPER. Il permettra de tester le concept d'allumeur rapide.

L'équivalent Américain du projet HIPER est le projet LIFE utilisant un concept de réacteur « hybride » et consiste à utiliser les neutrons issus des réactions de fusion pour conduire les réactions de fission sur un combustible fissile sous critique pouvant être des déchets nucléaires non retraités, de l'uranium appauvri ou du pu 239. Les gains attendus vont de 100 à 300 comprenant un gain de fusion de l'ordre de 25 à 30 en attaque indirecte et un gain additionnel de 4 à 10 dû au combustible fissile. Les cibles DT sont injectées au centre de la chambre de LIFE à raison d'une dizaine par seconde fournissant ainsi une puissance de fusion de 300 à 500 MW qui à son tour, en tenant compte du gain de fission, peut générer 2000 à 3000 MW. En comparaison, un réacteur utilisant uniquement les réactions de fusion générera la même quantité d'énergie soit 3000 MW avec une énergie laser 2 à 2.5 fois plus importante. Un autre avantage de LIFE est de réduire ainsi les quantités de déchets radioactifs stockés et la prolifération nucléaire.

VIII-C Le phénomène de fluorescence retardée

La fluorescence retardée est un phénomène comportant trois mécanismes différents :

- La fluorescence retardée de type E (comme Eosine) : il s'agit d'un processus dans lequel un état triplet excité (le nombre d'états quantiques possibles est de trois du fait que l'on a deux spins parallèles) est converti en état singulet (le nombre d'états quantiques possibles est de 1 du fait que l'on a deux spins antiparallèles) grâce à une activation thermique (Figure 105). Comme il y a équilibre entre les populations d'états triplet et singulet, les temps de vie de la fluorescence retardée et de la phosphorescence du composé sont égaux.
- La fluorescence de type P (pour Pyrène) : ce processus provient de l'interaction de deux molécules qui se trouvent dans un état triplet excité. Il y a alors annihilation triplet-triplet, engendrant la création d'une molécule dans un état singulet et l'autre dans l'état fondamental. La molécule excitée revient alors à son niveau fondamental par fluorescence.
- La fluorescence retardée issue de recombinaisons : un état singulet peut être peuplé par recombinaison d'un ion radicalaire avec des électrons ou par recombinaison avec une charge opposée.

La fluorescence retardée dure après la fin de l'excitation, tout en ayant le même spectre d'émission que celui observé en fluorescence spontanée. Ceci permet de différencier fluorescence retardée et phosphorescence.

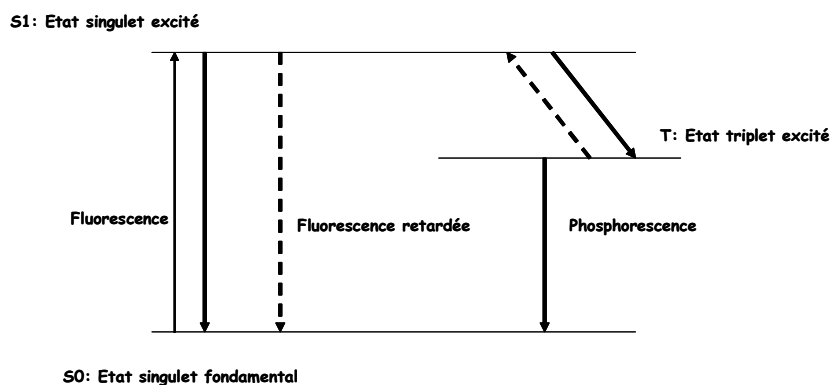


Figure 105 : Fluorescence retardée de type E.

VIII-D Les quantum dots: leurs caractéristiques et leurs utilisations

Les 'quantum dots' (QDs) sont des nanoparticules inorganiques composées d'un cœur semiconducteur inorganique (CdS, CdSe, ZnO...) responsable de l'émission lumineuse, auquel est associé une coquille inorganique chargée d'augmenter le rendement quantique et d'améliorer la stabilité des propriétés optiques. La taille du cristal inorganique varie entre 2 et 8nm.

Lors de l'excitation d'un quantum dot, une paire électron-trou (appelée exciton) est créée dans le matériau. Le rayon de Bohr associé à la fonction d'onde de cet exciton étant plus grand que les dimensions du cristal inorganique, il y a un effet de confinement dans le QD. Lors de la recombinaison de l'exciton, un photon est émis dont la longueur d'onde dépend de la largeur de la bande interdite. Dans le cas d'un confinement fort, la largeur de la bande interdite dépend de la taille des particules (du nombre d'orbitales atomiques présentes). Plus le confinement est important (QDs de petites tailles), plus la longueur d'onde est déplacée vers le bleu. A l'inverse, plus le confinement est faible (QDs de grande taille), plus l'émission se fait vers les longueurs d'ondes élevées. Pour une composition chimique donnée, la couleur d'émission est donc liée à la taille du QD. La recombinaison électron-trou n'est pas aussi rapide que le phénomène de fluorescence classique. La durée de décroissance du signal lumineux est en effet de 20 à 30 ns pour un QD contre quelques ns pour la fluorescence d'une molécule organique

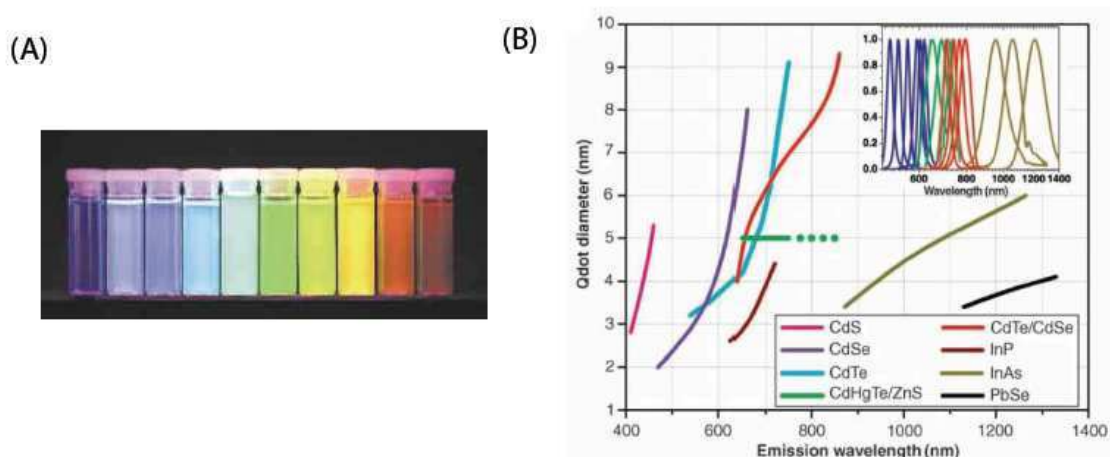


Figure 106 : Propriétés spectroscopiques des QDs : A) Dix couleurs différenciables de QDs, composés de CdSe recouvert ZnS excités à l'aide d'une lampe UV. De droite à gauche, le maximum d'émission se trouve respectivement à 443, 473, 481, 500, 518, 543, 565, 587, 610, 655nm. B) Longueur d'onde d'émission maximum de QDs selon leur composition et leur taille.

L'utilisation des QDs en biologie est relativement récente. Ils ont fait l'objet d'études physiques et leurs propriétés optiques ont été appliquées à des études in vitro et in vivo. Les problèmes liés à la fonctionnalisation de la surface des QDs ont retardé longtemps leur utilisation en biologie [1]. Lors de la synthèse, un surfactant est utilisé pour limiter et contrôler la croissance des particules, rendant les QDs hydrophobes. Aujourd'hui, il existe un grand nombre de façons de modifier la surface des QDs, avec toutefois comme conséquence une augmentation de la taille des particules. Les QDs disponibles sur le marché ont une taille d'environ 20nm.

Par rapport à des fluorophores classiques, les QDs possèdent une meilleure stabilité d'émission. En revanche, à l'échelle du QD unique, on observe des « clignotements' (blinking) de la fluorescence. Ce phénomène, qui dépend de la nature de la particule, de

son environnement et de la puissance d'excitation, n'est pas encore complètement compris.

Les applications des QDs sont extrêmement vastes : Ils peuvent être utilisés comme alternatives aux fluorophores organiques. De nombreuses expériences, tant in vitro (marquage cellulaire, tracking cellulaire, ciblage par anticorps ou peptide) qu'in vivo, (drainage lymphatique, ciblage tumorale) on été rapportées dans la littérature (Figure 107).

Il est à noter que récemment So et al. [2] ont synthétisé un complexe BRET Renilla reniformis luciférase, quantum dots, permettant de transformer les longueurs d'ondes peu favorables de la luciférase en infrarouge. L'activation des QDs n'est alors plus une excitation externe mais un transfert d'énergie.

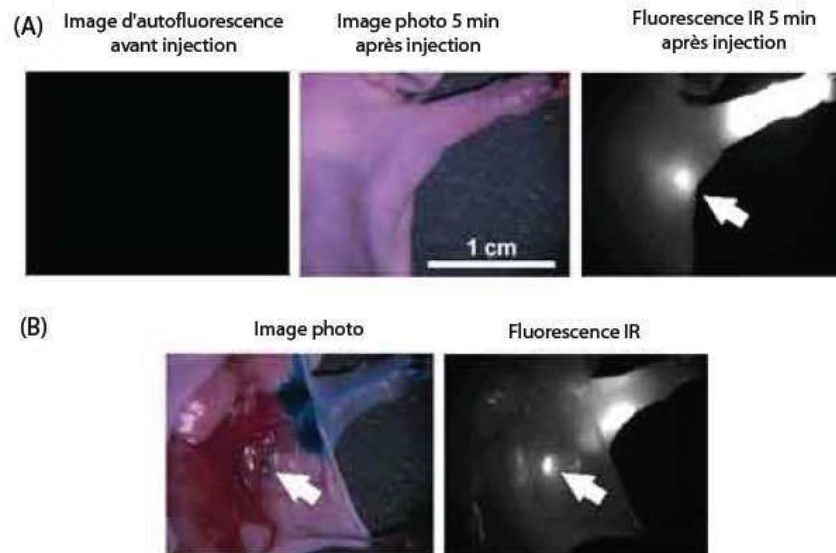


Figure 107 : Utilisation des quantum dots pour l'observation du drainage lymphatique chez la souris. A) Avant injection, l'autofluorescence est faible due à la longueur d'onde d'excitation entre 725 et 775nm. Seulement 5mn après injection des nanoparticules, le nœud lymphatique est clairement visible. B) la dissection de la souris permet de confirmer la colocalisation du bleu d'isosulfan et des QDs.

References bibliographique

- 1- B.Dubertret, P.Skouridos, D.J Norris, V. Nocreux, A.H Brivanlou and A. Libchaber, "In Vivo Imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles". *Science*, 298(5599): 1759-1762, Nov 2002.
- 2- M.K So, C.Xu, A.M Loening, S.S Gambhir and J.Rao, " Self-illuminating quantum dot conjugates for in vivo imaging". *Nat Biotechnol*, 24(3): 339-343, 2006.

VIII-E Faisabilité et définition d'une plateforme multimodale, dédiée à l'imagerie cérébrale du petit animal, utilisant l'imagerie optique de fluorescence couplée à l'IRM, au GIP CYCERON

Dans cette annexe, le projet sur l'imagerie optique in vivo au sein du GIP CYCERON (laboratoire d'imagerie médicale situé à Caen-Basse Normandie) réalisé en 2007 est présenté. Ce projet est essentiellement porteur de la recherche détaillée dans le mémoire pour cette thématique.

Un des domaines de recherche du GIP CYCERON a pour objet de mettre en place ou améliorer les traitements de certaines pathologies cérébrales telles que les accidents vasculaires cérébraux ischémiques et les tumeurs.

Les deux axes de recherche principaux impliquant l'imagerie optique dans ce domaine de recherche sont :

- 1) le développement d'un modèle in vivo de suivi dynamique et non invasif des altérations biophysiques liées au passage de molécules à travers la barrière hématoencéphalique (BHE) avec un intérêt particulier pour l'activateur tissulaire du plasminogène (tPA),
- 2) la mise en place d'une thérapie cellulaire basée sur l'utilisation des cellules souches mésenchymateuses comme vecteurs de molécules avec pour objectifs de caractériser la cinétique de migration de ces cellules du système périphérique vers le système nerveux central ainsi que leur localisation anatomique au sein du tissu cérébral lésé ou de la tumeur cérébrale.

La réussite de ce projet repose sur la maîtrise des procédures expérimentales en biologie cellulaire et moléculaire, celles-ci devant bénéficier de nouvelles techniques d'imagerie cérébrale et de nouveaux modèles animaux.

Les avancées technologiques en matière d'optique et de photonique, les derniers développements concernant les marqueurs fluorescents et bioluminescents permettent à l'imagerie optique in vivo d'avoir la capacité de répondre à ces enjeux. Cette technique offre des atouts non négligeables :

- sa mise en oeuvre non traumatique,
- son faible coût,
- sa flexibilité d'utilisation.

Les objectifs associés sont :

- de mettre en place une méthode innovante de tomographie optique dans le domaine du proche infra rouge capable de localiser, de quantifier et de suivre en temps réel des populations de marqueurs fluorescents/bioluminescents/phosphorescents dans le cerveau du petit animal en développant une méthode complémentaire de microscopie permettant ainsi de couvrir des champs d'observation allant de 5cm à 5mm.

- de développer des marqueurs optiques (fluorescents, bio-luminescents) adéquats. Nous envisageons aussi d'utiliser les propriétés physiques des sondes phosphorescentes qui permettront d'améliorer le rapport signal sur bruit et la sensibilité de détection.
- de développer des outils de fusion d'images avec l'IRM et la MicroTEP destinés à accroître les performances de l'imagerie optique.

La faisabilité et le démarrage du projet nécessitent l'acquisition d'un imageur optique déjà existant sur le marché, de génération très récente, en ciblant un industriel désireux de bénéficier à l'issue de la période de développement, d'un système très innovant, utilisable à la fois dans les domaines des neurosciences et de l'oncologie.

Un partenariat, centré sur l'évolution de cet imageur est à établir avec cet industriel. Le projet consistera dans la première phase à réaliser un rapport de faisabilité et un cahier de spécifications dont les buts seront de :

- valider l'application de l'imagerie optique dans les domaines des neurosciences et de l'oncologie en démontrant que cette méthode d'investigation est performante par rapport aux besoins du GIP CYCERON,
- proposer des innovations technologiques à l'industriel, destinées à faire évoluer l'imageur initial vers une version beaucoup plus performante en adéquation avec les attentes scientifiques des domaines de recherche des neurosciences et de l'oncologie.

A l'issue de cette première phase de faisabilité : l'instrumentation et les outils numériques décrits dans le cahier de spécifications seront développés, testés et validés.

A l'issue de cette deuxième phase de développement :

- le GIP CYCERON devrait disposer d'un nouvel outil d'investigation performant et innovant en très bonne adéquation avec ses axes de recherche,

L'industriel pourra commercialiser un modèle plus innovant, avoir accès à de nouveaux marchés et bénéficier d'un partenariat du GIP CYCERON, comme plateforme d'essai et site de référence

PROJET DETAILLE

Sommaire

I LE CONTEXTE

1) Le GIP CYCERON

- a) Sa mission et ses activités de recherche
- b) Les ressources

2) LES EQUIPES ET LES AXES DE RECHERCHE

- a) Equipe « Groupe de Développements Méthodologiques en Tomographie par Emission de Positons » dirigée par Louisa Barré
- b) Equipe Inserm-Avenir « tPA in the working brain » dirigée par Denis Vivien
- c) Equipe « hypoxie et physiopathologie cérébrovasculaire » dirigée par Myriam Bernaudin et Edwige Petit
- d) Equipe « physiopathologie de la synapse » dirigée par Alain Buisson

3) APPORT DE L'IMAGERIE OPTIQUE IN VIVO

4) METHODOLOGIE ENVISAGEE

II LE PROJET

1) LE SUJET

- a) Domaines d'application et caractéristiques requises
- b) Enjeux

2) IMAGERIE OPTIQUE : les différentes approches et technologies, état de l'art

- a) Avantages et limitations de l'imagerie optique
- b) La situation du marché, les dispositifs existants

3) SPECIFICITES SCIENTIFIQUES DU PROJET. ASPECTS NOVATEURS

- a) Axes d'études et de développement
- b) Les méthodes novatrices

III ORGANISATION DU PROJET

1) LE PROJET ET SES CONDITIONS DE DEMARRAGE

2) LE CONSTRUCTEUR : SON RÔLE, SA CONTRIBUTION

3) LES COLLABORATIONS REGIONALES

4) LES RESSOURCES NECESSAIRES

5) LES PHASES DU PROJET

6) LES RESULTATS ESCOMPTEES

ANNEXE 2 : Références bibliographiques

I/ LE CONTEXTE

1) LE GIP CYCERON

a) Sa mission et ses activités de recherche

Le GIP CYCERON est un centre d'imagerie cérébrale et de recherche appliqué au domaine des neurosciences et de l'oncologie.

Les activités de recherche s'articulent autour de trois grands axes :

- l'étude de la physiopathologie et la thérapie de maladies cérébrales à l'aide de modèles de maladies neurodégénératives telles que les accidents vasculaires cérébraux ischémiques, les tumeurs et la maladie d'Alzheimer,
- l'établissement d'une cartographie des fonctions cérébrales en mettant en évidence l'activité des régions cérébrales sollicitées lors de tâches cognitives,
- le développement de radioligands pour l'imagerie TEP.

Ces recherches utilisent des techniques d'imagerie performantes et innovantes, notamment optiques, impliquant des évolutions techniques constantes.

Le GIP CYCERON dispose d'une plateforme d'imagerie reconnue à l'échelon national et international comme notamment plateforme d'imagerie in vivo pour le petit animal.

b) Les ressources

Le GIP CYCERON a acquis une solide expertise dans les domaines de la neurobiologie et de la chimie. Sa plate forme d'imagerie est équipée :

- d'un cyclotron IBA,
- de deux caméras TEP Siemens,
- de deux stations IRM 3T (pour l'humain) et 7T (pour le petit animal), d'une animalerie,
- de laboratoires destinés à l'imagerie microscopique moléculaire et cellulaire,
- d'un système caméra MicroTEP qui est en cours d'acquisition

2) LES EQUIPES ET LES AXES DE RECHERCHE

a) Equipe « Groupe de Développements Méthodologiques en Tomographie par Emission de Positons » dirigé par Louisa BARRE

Dans le cadre de ses recherches qui visent à élaborer des traceurs pour l'imagerie in vivo, cette équipe s'intéresse au développement de marqueurs multimodaux, à propriétés optiques et radioactives après incorporation d'un atome de fluor-18

(émetteur \square^+ , $t_{1/2}$ = 110 min), pour des études convergentes in vitro, ex vivo et in vivo des interactions ligand/cible moléculaire.

L'objectif est de mettre au point des outils chimiques utilisables en microscopie confocale, imagerie optique et TEP, permettant la visualisation des phénomènes physiopathologiques d'intérêt au niveau moléculaire, cellulaire et tissulaire.

A terme, une comparaison des images obtenues en micro-TEP et en imagerie optique in vivo, pourra aider au développement technologique de cette dernière. Les marqueurs envisagés s'inscrivent dans le cadre de projets de collaboration au sein du département NIMCI du GIP CYCERON.

b) Equipe INSERM-Avenir : « tPA in the working brain » dirigé par Denis VIVIEN

Le passage de molécules au travers de la barrière hémato-encéphalique (BHE), ainsi que les risques hémorragiques potentiellement associés sont des facteurs « limitant » aux applications thérapeutiques concernant le système nerveux central.

La thématique de cette équipe se situe dans le cadre de l'amélioration des traitements des accidents vasculaires cérébraux ischémiques et vise au développement d'un modèle in vivo de suivi dynamique et non invasif des altérations biophysiques liées à la BHE.

Dans ce cadre, cette équipe envisage d'utiliser du tPA (activateur tissulaire du plasminogène) fluorescent ou phosphorescent, afin de suivre la thrombolyse et le passage de la BHE sous effet de cette molécule.

c) Equipe « hypoxie et physiopathologie cérébrovasculaire », dirigée par Myriam BERNAUDIN et Edwige PETIT

Un des axes de recherche développé par cette équipe vise à déterminer si les cellules souches mésenchymateuses (CSM) pourraient constituer une stratégie thérapeutique de certaines pathologies cérébrales telles l'ischémie et les tumeurs.

En effet, par rapport à des pathologies cérébrales pour lesquelles on cherche à développer des stratégies applicables à l'homme, un certain nombre de problèmes doivent être surmontés :

- le passage des molécules à travers la BHE,
- la nécessité le plus souvent d'un apport chronique,
- l'instabilité liée à la nature protéique des traitements les plus utilisés.

Une stratégie alternative consisterait donc à développer une stratégie de thérapie cellulaire basée sur l'utilisation des cellules comme vecteur de molécules. Des résultats en faveur d'une telle stratégie dans l'ischémie cérébrale et sur un modèle de glioblastomes chez le rat ont été obtenus.

Les objectifs de cette équipe sont de caractériser, en parallèle des effets biologiques observés :

- la cinétique de migration de ces cellules, du système périphérique vers le système nerveux central,
- leur localisation anatomique au sein du tissu cérébral lésé ou de la tumeur cérébrale.

d) Equipe « Physiopathologie de la synapse » dirigée par Alain BUISSON

Des données récentes semblent indiquer que la diminution de l'expression de la sous unité NR2B des récepteurs NMDA serait un des marqueurs précoces des dysfonctionnements de la neurotransmission et à terme des troubles mnésiques mis en évidence dans la maladie d'Alzheimer (MA). La modulation d'expression des sous unités au cours de la MA reste encore très discutée.

Les résultats obtenus semblent souvent dépendants de l'approche technique utilisée et l'origine de cette modulation est encore inconnue. Il a été démontré : lors d'un traitement avec la protéine βA , les récepteurs NMDA délaisseraient la synapse au profit de la zone extrasynaptique suggérant que cette modification de la localisation du récepteur pourrait être à l'origine de l'ambivalence des effets de la protéine βA .

Dans ce cadre, l'objectif du projet de cette équipe est d'améliorer la compréhension des relations cellulaires et moléculaires entre les différentes formes du peptide βA et la neurotransmission glutamatergique, via l'utilisation de marqueurs spécifiques des sous unités NR2A et NR2B utilisables en imagerie optique. Ces marqueurs devront nous renseigner sur la corrélation temporelle entre les troubles mnésiques et/ou la neurodégénérescence dans les modèles murins de maladie d'Alzheimer. En validant l'utilisation des ligands spécifiques des récepteurs NMDA comme des outils diagnostiques dans la maladie d'Alzheimer, ce projet vise à améliorer la détection et la prise en charge précoce des patients atteints par cette maladie neurodégénérative afin d'optimiser l'efficacité des traitements pharmacologiques disponibles.

3) APPORT DE L'IMAGERIE OPTIQUE IN VIVO

L'imagerie optique s'est développée récemment, notamment en ce qui concerne les techniques de fluorescence qui s'appuient sur la détection d'un fluorochrome après excitation transcutanée par un laser. Il est donc possible d'étudier grâce à cette technique des populations de cellules marquées par un fluorochrome spécifique et ainsi de caractériser le développement d'une maladie et l'effet d'agents pharmaceutiques.

L'imagerie optique présente de nombreux atouts :

- une simplicité de mise en œuvre,
- un coût modéré d'acquisition et de fonctionnement,
- un local dédié avec des contraintes d'environnement peu contraignantes,
- une haute sensibilité,
- une flexibilité d'utilisation,
- un caractère non traumatique sur des investigations in vivo,

- une résolution temporelle élevée bien adaptée à l'étude des phénomènes cinétiques rapides que l'on rencontre notamment en imagerie cérébrale.

L'imagerie optique présente quelques facteurs limitatifs de performance en matière d'investigation :

- une faible résolution spatiale, due à la nature diffusive des photons,
- une faible sensibilité en profondeur, provoquée par l'absorption des photons.

Des résultats récents démontrent que la mise en œuvre d'une technique tomographie optique basée sur l'utilisation de la fluorescence dans le domaine du proche infrarouge permettrait en partie de s'affranchir de ces facteurs limitatifs. L'intérêt de cette technique est de permettre d'identifier très rapidement la distribution spatiale d'un marqueur (cellulaire ou moléculaire) sur l'animal entier ou au niveau du cerveau, de façon totalement non traumatique. Cette investigation est donc facilement répétable dans le cadre d'un protocole de recherche.

Concernant l'activité cérébrale, les processus physiologiques qui lui sont associés se subdivisent en deux catégories selon leur localisation :

- les premiers se produisent intra cellulairement ou aux niveaux des membranes cellulaires,
- les autres sont localisés dans le compartiment vasculaire.

Parmi les techniques d'imagerie fonctionnelle, l'IRM est « une méthode de référence », pour son excellente résolution spatiale mais elle présente une résolution temporelle limitée.

La TEP quant à elle possède une haute sensibilité de grandes profondeurs mais présente des résolutions spatiales et temporelles limitées.

Dans ce contexte, les techniques d'investigation par l'imagerie optique, qui offrent une haute sensibilité de détection et une haute résolution temporelle sont prometteuse, performantes et évolutives.

Dans le domaine de l'imagerie d'investigation l'imagerie optique se positionne :

- comme une méthode complémentaire de l'IRM du fait de sa haute résolution temporelle,
- comme une méthode complémentaire de la TEP du fait de sa capacité à quantifier des marqueurs à de grandes profondeurs.

4) METHODOLOGIE ENVISAGEE

La méthodologie envisagée pour répondre aux axes de recherche et développement évoqués sera de développer :

- une méthode d'investigation innovante, basée sur l'utilisation de l'imagerie optique, avec pour objectif principal de localiser, de quantifier et de suivre dans le temps :
 - la concentration de sondes fluorescentes/bioluminescentes dans un milieu diffusant.

Dans un premier temps, on validera cette nouvelle approche d'imagerie optique sur des modèles bien caractérisés *in vitro* pour ensuite développer de nouveaux modèles en optimisant la localisation, la quantification et la cinétique de cellules/molécules au niveau du cerveau.

Dans les tissus biologiques vivants, le signal mesuré par une méthode d'imagerie optique comprend à la fois la contribution de l'émission de la sonde fluorescente/bioluminescente ainsi que des signaux parasites. Notamment dans le cas de la fluorescence, l'émission de la sonde fluorescente est perturbée par des signaux parasites provenant, d'une part du rayonnement d'excitation passant au travers des filtres et, d'autre part, de l'autofluorescence des tissus biologiques. L'analyse du signal mesuré et la différenciation de ses différentes composantes peuvent se faire soit par l'exploitation des différences de temps de vie soit par l'exploitation des différences des spectres émis.

Dans ce projet, on explorera la deuxième alternative et les objectifs scientifiques du projet seront :

- 1) le développement d'une méthode innovante de tomographie optique dans le domaine du proche infra rouge ainsi que d'une méthode complémentaire de microscopie pour couvrir des champs d'observation allant de 5cm à 5mm.
- 2) la détermination et la caractérisation de marqueurs optiques (fluorescents, bioluminescents...) adéquats.
- 3) Le développement de méthodes de multi modalité et d'outils de fusion d'images avec l'IRM et la MicroTEP pour accroître les performances de l'imagerie optique.

III/ LE PROJET

1) Sujet

L'objectif majeur est :

- de développer une méthode innovante d'imagerie optique *in vivo* dans le domaine du proche infra rouge capable de localiser, de quantifier et de suivre en temps réel des populations de marqueurs fluorescents/bioluminescents/phosphorescents dans le cerveau du petit animal.

La localisation de ces marqueurs ainsi que la quantification de leurs émissions seront améliorés au moyen du développement de méthodes de multi modalité avec l'IRM et la MicroTEP.

Ce projet s'articule autour des axes suivants :

- Démontrer l'applicabilité de l'imagerie optique dans les domaines des neurosciences et de l'oncologie en développant une méthode de tomographie optique dans le domaine du proche infra rouge ainsi que son couplage avec une méthode complémentaire de microscopie.
- Optimiser et accroître les performances de l'imagerie optique en développant des méthodes de multi modalité avec l'IRM et la MicroTEP et en exploitant l'apport de la spectrométrie à la localisation et la quantification de fluorophores en développant une chaîne de caractérisation spectrale des signaux composants une acquisition d'imagerie optique.

a) Domaines d'applications et caractéristiques requises

Ce nouvel outil d'investigation sera dédié au domaine des neurosciences et de l'oncologie, il contribuera à :

- la compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires par lesquels le tPA peut influencer le comportement neuronal au cours d'une ischémie cérébrale et dans quelles conditions le tPA passe la BHE,
- la localisation, la quantification de migration des molécules et cellules du cerveau, en utilisant des marqueurs fluorescents

Les caractéristiques requises pour l'instrumentation optique sont de fournir :

- une haute résolution temporelle (~ dizaine de secondes),
- une capacité à quantifier l'émission de la source,
- un seuil de détection bas et une haute sensibilité en profondeur.

Une bonne restitution des processus biologiques étudiés nécessite à la fois un système d'acquisition de données rapide et des outils de modélisation et d'analyse de données hautement spécifiques. Les caractéristiques des marqueurs associés sont de fonctionner dans la gamme du proche infrarouge [700,900]nm, de présenter des émissions stables et suffisantes ainsi qu'un [Stokes' shift]_{r1} supérieur à 20nm pour atteindre les précisions souhaitées.

b) Enjeux

Les enjeux et objectifs de ce projet seront :

- *d'innover dans les méthodes d'imagerie optique in vivo* dans le domaine des neurosciences et de l'oncologie et de contribuer à la mise en œuvre de nouveaux marchés pour cette technologie d'imagerie,

- de coupler l'imagerie optique avec les techniques existantes ou en cours d'acquisition que sont l'IRM (7T) et la MicroTEP, et ainsi doter le GIP CYCERON d'une plate forme d'imagerie in vivo performante dédiée au petit animal capable de fournir des images performantes pour améliorer les protocoles de recherche des équipes et leurs publications,
- de contribuer à la visibilité scientifique du GIP CYCERON par rapport à cette technique, en établissant des collaborations européennes (notamment le réseau DIMI- Diagnostic in Molecular Imaging) et internationales.

2) Imagerie optique : Les différentes approches et technologies, état de l'art

L'approche expérimentale de l'imagerie moléculaire in vivo vise :

- à identifier les processus biologiques impliqués dans une pathologie spécifique,
- à comprendre le rôle de ces processus,
- à constater leurs effets sur la progression de la maladie.

L'exploration et la compréhension de ces processus impliquent la connaissance d'informations couvrant plusieurs échelles de temps et d'espaces et nécessite donc le développement de techniques spécifiques d'imagerie et de marquage.

Les caractéristiques de l'instrumentation nécessaire au développement de telles techniques sont de posséder une haute sensibilité, de fournir de hautes précisions (résolution spatiale et temporelle) et d'être tridimensionnelle et multimodale. Les récents développements en imagerie du petit animal montrent que la plupart des techniques d'imagerie médicale contribuent à répondre à ces enjeux avec leurs avantages et leurs limitations respectives.

Les avancées technologiques en optique et en photonique, ainsi que les résultats obtenus dans le développement de marqueurs fluorescents biocompatibles émettant dans le proche infra rouge [700,900] nm confèrent à l'imagerie optique in vivo la capacité de fournir de hautes résolutions temporelles (quelques dizaines de secondes).

L'imagerie optique permet d'obtenir une haute sensibilité de détection ($[10^{-9}, 10^{-17}]$ moles/litre) avec ces atouts déjà précisés (caractère non traumatique, sa flexibilité et son faible coût). D'autre part, la plus grande compréhension des interactions lumière tissu biologique ont considérablement élargie les possibilités d'imagerie optique in vivo.

Les rôles potentiels de l'imagerie optique comprennent le diagnostic, la détermination du stade d'une maladie, la localisation de la maladie, la surveillance de la réponse thérapeutique et la surveillance des fonctions métaboliques et physiologiques.

L'imagerie optique peut être couplée avec d'autres modalités d'imagerie telle que l'IRM ou la TEP étant donné qu'il y a une interférence minimale entre ces techniques et que les composants comme la fibre optique sont compatibles avec l'IRM et la TEP.

a) Avantages et limitations de l'imagerie optique

Les paramètres caractérisant un système d'imagerie sont sa résolution spatiale et/ou temporelle, sa sensibilité (en fonction de la profondeur) et son seuil de détection.

Les avantages de l'imagerie optique sont :

- de posséder une haute résolution temporelle
- d'avoir une haute sensibilité jusqu'à des profondeurs de l'ordre de quelques mm,
- d'être une technique applicable à une large gamme d'échelles spatiales et temporelles,
- d'occasionner un coût modéré d'investissement et de fonctionnement,
- d'avoir une grande souplesse d'utilisation,
- d'être non traumatique.

Les limitations de l'imagerie optique sont :

- d'avoir une résolution spatiale limitée.
- de quantifier difficilement un signal en profondeur.
- d'avoir une faible sensibilité à des profondeurs > 5mm.
- que le signal d'autofluorescence limite la sensibilité du système.

Pour optimiser l'efficacité de l'imagerie optique les solutions suivantes sont envisagées :

- l'utilisation de marqueurs fonctionnant dans le proche infra rouge pour augmenter la sensibilité en profondeur et réduire le signal d'auto-fluorescence,
- choix des informations spectrales et développement des outils d'analyse spectrale pour différencier les différentes composantes du signal acquis et aider à la quantification de la source,
- recalage des résultats fournis par l'imagerie optique sur un atlas anatomique obtenu à partir d'une segmentation IRM, pour améliorer la localisation de la source.

b) La situation du marché, les dispositifs existants

La plupart des dispositifs d'imagerie optique développés dans le cadre de l'imagerie du petit animal concerne l'imagerie du corps entier et sont dédiés : principalement à la cancérologie, à la caractérisation de produits pharmaceutiques.

Les deux phénomènes sur lesquels s'appuie l'imagerie optique sont :

- la bioluminescence où l'émission de photons est déclenchée par une réaction biochimique interne,
- la fluorescence où l'émission de photons est déclenchée par une source d'excitation extérieure.

Les techniques d'imagerie de fluorescence les plus couramment employées utilisent soit une source d'excitation continue couplée à une CCD ultra sensible (CW : Continuous Wave technology), soit l'utilisation d'une source pulsée couplée à un photomultiplicateur à galettes de microcanaux (TD : Time Domain technology). Les dispositifs existants avec cette technologie sur le marché permettent d'obtenir des images 2D et sont commercialisés pour la plupart par deux sociétés XENOVISION corp(USA) avec une technologie CW et ART (Advanced Research Technology) (Canada/Québec) avec une technologie TD.

Plusieurs équipes de par le monde (compagnies privées et organismes de recherche publics) se sont lancées dans le développement de dispositif de tomographie optique de fluorescence. L'équipe la plus connue et la plus prestigieuse est celle de Weissleder (Massachusetts General Hospital/Center for molecular imaging) qui a mis au point un prototype de tomographie optique de fluorescence dédiée à l'oncologie. Il est à noter que le CEA/LETI a mis récemment au point un prototype de tomographie optique de fluorescence dédiée à la détection de tumeurs dans les poumons.

Bien que beaucoup d'équipes de recherche étudient le développement d'un tel outil appliqué à l'imagerie cérébrale, **aucun dispositif dédié aux neurosciences n'a encore été développé.**

3) Spécificités scientifiques du projet. Aspects novateurs

Le principal avantage de l'imagerie optique réside dans sa capacité à suivre un événement quasiment en temps réel. Le développement d'une méthode d'imagerie optique performante, la mieux adaptée aux besoins du GIP CYCERON va nécessiter de déterminer de manière optimale :

- **le volume et le type de données nécessaires à l'obtention de résolutions spatiales et temporelles de bonne qualité**

Une contrainte importante liée à l'application de l'imagerie optique aux neurosciences est :

- que par rapport au cerveau, on ne peut pas utiliser l'approximation de la diffusion « partout », du fait de certaines régions du cerveau, peu ou pas diffusives.

Pour palier à cette contrainte, un modèle spécifique de propagation des photons doit être développé.

a) Axes d'études et de développement

Les actions d'études et de développement envisagées sont les suivantes :

- 1) La mise en œuvre de techniques de multi modalité avec l'IRM(7T) et/ou la MicroTEP avec pour objectif de développer des outils de fusion et de recalage d'images.
- 2) constituer un atlas anatomique du cerveau du petit animal et estimer les propriétés optiques des différents tissus constituant le cerveau du petit animal.
- 3) Intégrer des informations provenant de l'IRM(7T) et/ou de la MicroTEP comme connaissance à priori dans le modèle de reconstruction tomographique optique.
- 4) Déterminer avec précision la fenêtre infrarouge optimale pour le petit animal.
- 5) La mise en œuvre d'une chaîne de caractérisation spectrale des signaux composant une acquisition par imagerie optique diffusive de fluorescence ou de bio luminescence dans un milieu épais.
- 6) Evaluer et intégrer cette approche dans un processus tomographique avec diverses géométries.
- 7) développer un modèle numérique de propagation des photons dans le cerveau prenant en compte à la fois les régions hautement diffusives et les régions peu ou pas diffusives.

b) Les méthodes novatrices

L'intérêt majeur du projet est de proposer et de mettre en œuvre des méthodes d'investigation totalement novatrices à la fois au bénéfice des équipes de recherche du GIP CYCERON et de l'industriel qui pourra en exploiter les débouchés commerciaux par la suite. Ces méthodes novatrices auront pour objet de :

- 1) fixer avec précision la fenêtre infrarouge optimale pour l'imagerie du petit animal,
- 2) déterminer la nature et la quantité de données optimums nécessaires à l'obtention de résolutions spatiales et temporelles en adéquation avec les besoins du GIP CYCERON,
- 3) Estimer par simulation numérique, la résolution spatiale qu'il est possible d'obtenir en fonction de la profondeur de la source avec un modèle hétérogène,
- 4) développer un modèle de propagation des photons spécifique à l'imagerie cérébrale.

- 5) Coupler le domaine macroscopique avec le domaine microscopique en couvrant les champs d'observation allant de 5cm à 5mm.

IV Organisation du projet

Le démarrage effectif du projet, dès sa phase de faisabilité nécessite à la fois le choix d'une machine et d'un partenariat technologique avec un constructeur qui pourra déboucher sur une opération de valorisation industrielle à la fin du projet.

1) Le projet et les conditions de démarrage

La R&D (phase de faisabilité) de ce projet d'une durée d'environ deux ans sera dirigée par Olivier DELAGE (ingénieur-physicien du CEA mise à disposition du GIP CYCERON) en collaboration avec les équipes scientifiques du GIP CYCERON et de l'UMR CNRS 6072 (Dr Jalal Fadili) auprès de qui la mise en place d'une collaboration est en cours.

Ce projet ne pourra commencer qu'à partir de l'acquisition d'un imageur optique et de sa mise en service effective sur le site du GIP CYCERON.

La machine envisagée sera un imageur déjà existant sur le marché mais de génération très récente (pas de prototype). En parallèle de cette acquisition il sera établi un partenariat avec un industriel désireux de s'investir dans le domaine de la neuro-oncologie et de bénéficier des synergies avec les autres techniques d'imagerie présentes sur la plateforme.

Ce partenariat sera basé aussi sur l'objectif de faire évoluer technologiquement cet imageur. Le projet débutera dans sa première phase, sur l'écriture d'un rapport de faisabilité et d'un cahier de spécifications.

Le rapport de faisabilité visera à démontrer l'applicabilité de l'imagerie optique dans les différentes thématiques du GIP CYCERON et déterminera les limites de fonctionnement de la méthode développée.

Le cahier de spécifications aura pour objectif de proposer des solutions technologiques destinées à l'évolution de l'imageur initial.

La deuxième phase dite « de développement » consistera principalement :

- à développer en collaboration avec l'industriel, de l'instrumentation et des outils numériques décrits dans le cahier de spécifications,
- à définir le type de multimodalité qu'il serait nécessaire de développer pour accroître les performances du dispositif optique. Les informations apportées par l'IRM pourraient améliorer la résolution spatiale du dispositif d'imagerie optique, la micro-TEP pourrait permettre de valider

et d'optimiser la quantification de la source obtenue à partir du dispositif d'imagerie optique.

Si des évolutions technologiques sont développées à l'issue de la deuxième phase de développement il est envisagé dans la convention que l'industriel puisse en exploiter totalement les débouchés commerciaux.

2) Le constructeur : son rôle, sa contribution

L'industriel choisi (**BIOSPACE**) est désireux de mettre en place un partenariat avec CYCERON dans le but de créer un nouveau marché centré sur les neurosciences. Ce partenariat partira de l'acquisition d'un imageur de génération très récente et il mettra à la disposition de CYCERON des moyens techniques et financiers en échange de quoi CYCERON mettra à sa disposition son expertise en neurologie et en chimie, lui sous traitera la R&D nécessaire à l'évolution de son imageur vers une version utilisable en neuroscience, lui abandonnerait tout résultat brevetables concernant l'évolution de l'instrumentation de l'imageur initial et mettra à sa disposition sa plateforme d'imagerie comme plateforme commune de recherche et de test et comme centre client de référence.

3) Les collaborations régionales

Une collaboration a été initiée avec le Dr Jalal Fadili de l'UMR CNRS 6072 dirigée par le Dr Marinette REVENU. Cette UMR possède une expertise en matière de modélisation et d'analyse d'image et sa contribution est nécessaire à la réalisation de ce projet.

4) Les phases du projet

Le projet se décompose en deux phases :

- une phase de faisabilité, qui commencera à l'acquisition de l'imageur (et à la signature de la convention de partenariat avec l'industriel, cette phase est évaluée à deux ans.
- une phase de développement, qui commencera après la validation de la phase de faisabilité et qui est évaluée elle aussi à environ deux ans.

5) Les résultats escomptés

C'est un projet de type « gagnant-gagnant » qui doit profiter aux trois partenaires financeurs de l'opération. Les principaux bénéfices escomptés sont :

- **pour le GIP CYCERON** : acquérir et utiliser un outil d'investigation performant, innovant dans les domaines des neurosciences et de l'oncologie et d'accentuer notamment la visibilité du GIP CYCERON en tant que plateforme d'imagerie
- **pour l'industriel** : bénéficier d'un service recherche et développement déporté sur le site du GIP CYCERON, exploiter les débouchés commerciaux des

innovations technologiques sur sa machine et disposer d'un accès au GIP CYCERON comme plateforme d'essai et ensuite comme site de référence client,

- **pour la région de Basse Normandie** : contribuer au développement d'un nouveau pôle d'expertise au GIP CYCERON avec une visibilité internationale, renforcer la compétitivité de la plateforme d'imagerie du GIP CYCERON, promouvoir des opérations de valorisation industrielle.

IV ANNEXE Références bibliographiques

- Coupled radiative transfer equation and diffusion approximation model for photon migration in turbid medium with low-scattering and non-scattering regions. Tanja Tarveinen, Marko Vauhkonen, Ville Kolehmainen, Simon Arridge and Jari Kaipio, submitted to Phys. Med. Biol, 2006.
- Comparison of finite-difference transport and diffusion calculations for photon migration in homogeneous and heterogeneous tissues. Andreas Hielsher and all, Phys. Med. Biol, 43, 1998.
- A wavelet-based multiresolution regularized least squares reconstruction approach for optical tomography. Wenwu Zhu, Yao Wang, IEEE transactions on medical imaging, vol 16, num 2, April 1997.
- Improved sensitivity to cerebral hemodynamics during brain activation with a time-gated optical system: analytical model and experimental validation. Juliette Selb, David Boas and all, Journal of biomedical optics, 2005.
- Fluorescence optical diffusion tomography. Adam Milstein, David Boas and all, Applied optics, 2003.
- Daubechies 4 wavelet with a support vector machine as an efficient method for classification of brain images. L.M. Patnaik, Journal of Electronic Imaging, 2005.
- Automated region detection based on the contrast-to-noise ratio in near-infrared tomography. Xiaomei Song, Brian Pogue and all, Applied optics, 2004.
- In vivo molecular and genomic imaging: new challenges for imaging physics. Simon Cherry, topical review, Physics in Medicine and biology , 49, 2004.
- A survey of spectral unmixing algorithms. Nirmal Keshava, Lincoln Laboratory Journal, vol 14, 2003.
- Recent advances in diffuse optical imaging, A.P Gibson, J.C Hebden, S.R Arridge, Topical review, Physics in Medicine and Biology, 50, 2005.
- Modeling of spectral changes for depth localization of fluorescent inclusion, J. Svensson, S. Andersson-Engels, Optics Express, vol 13, num 11, 2005.
- Non-contact fluorescence molecular tomography of small animals, R. Schulz, J. Ripoll, 2005.
- Optimization of optode arrangements for diffuse optical tomography: A singular-value analysis, J.P Culver, V. Ntziachristos, M.J. Holboke, A.G. Yodh, Optics Letters, vol 26, num 10, 2001.
- A submillimeter resolution fluorescence molecular imaging system for small animal imaging, E. Graves, J. Ripoll, R. Weissleder, V. Ntziachristos, Med Phys 30 (5), 2003.
- Finite element model for the coupled radiative transfer equation and diffusion approximation, T. Tarvainen, M. Vauhkonen, V. Kolehmainen, J.P. Kaipio, Int. J. Numer. Meth. Engng, 2004.

- Instrumentation for fast functional optical tomography, C. Schmitz, M. Löcker, J. Lasker, A. Hielsher, R. Barbour, Review of Scientific Instruments, Vol 73, Num 2, 2002.
- Near- infrared diffuse optical tomography, A. Hielsher and all, Disease Markers 18, 2002.
- Diffuse optical imaging of brain activation: approaches to optimizing image sensitivity, resolution, and accuracy, D. Boas and all, Neuroimage, 23, 2004;
- Image reconstruction in optical tomography, S. Arridge, M. Schweiger, Phil. Trans. R. Soc. Lond B, 1997.
- Singular-value analysis and optimization of experimental parameters in fluorescence molecular tomography, Edward E. Graves, Joseph P. Culver, Jorge Ripoll, Ralph Weissleder and Vasilis Ntziachristos, Optical Society of America, vol21, num 2, feb 2004.
- Diffuse optical imaging of brain activation: approaches to optimizing image sensitivity, resolution and accuracy, David A. Boas and all, NeuroImage 23, 2004.
- In vivo Tomographic Imaging of near infrared fluorescent probes, Vasilis Ntziachristos, Christoph Bremer, Edward E. Graves, Jorge Ripoll, Ralph Weissleder, Molecular Imaging, vol 1, num 2, April 2002.
- Noninvasive optical imaging by speckle ensemble, Joseph Rosen, David Abookasis, Optics Letters, vol 29, num 3, Feb 2004.
- Non Invasive Neuroimaging using Near-Infrared Light, G. Strangman, D. Boas, J. Sutton, Society of Biological Psychiatry, 2002.
- Optical Molecular Imaging, Time Domain advantages with eXplore Optix, W. Long, M. Vernon, Internal report, National Optical Institute, Jan 2004.
- A Hyperspectral Fluorescence Imaging System for Biological Applications, Guido Zavattini, Stefania Vecchi, Richard Leahy, Desmond J. Smith, Simon R. Cherry, IEEE, 2004.
- PET-MOT A novel concept for Simultaneous Positron and Optical Tomography in small Animals, Joerg Peter, Ralf B. Schulz and Wolfhard Semmler, IEEE, 2005.
- Frequency-Domain Diffuse Optical Tomography of Breast Tissue Detector Size and Imaging geometry, Brian W. Pogue and all, Proceedings-19th International Conference IEEE/EMBS, Chicago(USA), Nov 1997.
- Simultaneous integrated diffuse optical tomography and functional magnetic resonance imaging of the human brain, X. Zhang, V. Toronov and A G. Webb, Optics Express, vol 13, num 14, July 2005.

VIII-F Imagerie de pénombre. Algorithme de Nugent

L'image acquise I (paragraphe III-2-1-1, figure 31) de diamètre D_i , est une image codée, obtenue par la convolution suivante :

$$I = O * A \quad (133)$$

où O est l'image de l'objet de diamètre T_1 et A est l'image du diaphragme de diamètre D_1 , c'est à dire l'image que l'on obtiendrait avec une source ponctuelle centrée sur l'axe optique du système. C'est l'image de la réponse impulsionnelle du système. Les conditions géométriques sont telles que:

$$D_1 > T_1 \quad (134)$$

O et A sont des fonctions de l'espace (x,y) , soient $O(x,y)$ et $A(x,y)$, à valeurs réelles positives ou nulles et à support borné.

$$\int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} A(x,y) dx dy = 1 \quad (135)$$

On définit :

$$A(x,y) = \Lambda(r/D_1) \quad (136)$$

où $r = (x^2 + y^2)^{1/2}$ et :

$$\begin{aligned} \Lambda(r/D_1) &= \frac{1}{\Pi} (D_1/2)^2 \quad \text{si } r < D_1/2 \\ &= 0 \quad \text{si } r \geq D_1/2 \end{aligned} \quad (137)$$

La transformée de Fourier de $A(x,y)$ s'écrit :

$$\begin{aligned} TF_A(k_x, k_y) &= \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-2i\pi(k_x x + k_y y)} A(x,y) dx dy \\ TF_A(k_x, k_y) &= TF_A(k) = \frac{J_1(2\pi a k)}{\pi a k} \end{aligned} \quad (138)$$

où k est la fréquence $k^2 = k_x^2 + k_y^2$, J_1 est la fonction de Bessel du premier ordre.

$TF_A(k)$ est une fonction du type $J_1(r)/r$ dont on connaît la position des passages à zéro (cf table des fonctions de Bessel). Si on note r_0 , la position du premier passage à zéro de $J_1(r)/r$ et k_0 la fréquence pour laquelle on a le premier zéro de $TF_A(k)$, on obtient :

$$\begin{aligned} 2\pi a k_0 &= r_0 \\ \text{soit } a &= \frac{r_0}{2\pi k_0} \end{aligned} \quad (139)$$

La position du premier passage à zéro de $TF_A(k)$ est directement liée au rayon de l'image de la réponse impulsionnelle.

D'autre part, d'après 134 :

$$\text{Support}(O) < \text{Support}(A) \quad (140)$$

Si TF_O et TF_A sont respectivement les transformées de Fourier des images O et A et que l'on note Z_O et Z_A les premiers passages à zéro de TF_O et de TF_A , on a le théorème suivant :

TH : Sous l'hypothèse 140, $Z_A < Z_O$

La démonstration est faite à une dimension, le passage à deux dimensions est immédiat.

Démonstration :

Soit $f(x)$ une fonction à valeurs réelles positives ou nulles et à support borné $[-a, +a]$. Si $TF(k)$ est la transformée de Fourier de $f(x)$:

$$\text{Re}TF(k) = \int_{-\infty}^{+\infty} \cos(2\pi kx) f(x) dx \quad (141)$$

où $\text{Re}F(k)$ représente la partie réelle de $F(k)$.

$\forall x \in [-a, +a], f(x) \geq 0$, $\cos(2\pi kx) \cdot f(x)$ a le signe de $\cos(2\pi kx)$, ce qui donne :

$$\text{Re}TF(k) = \int_0^a \cos(2\pi kx) [f(x) + f(-x)] dx \quad (142)$$

Pour que $\text{Re}TF(k)$ ait un zéro, il faut trouver k_m tel que $\cos(2\pi kx)$ ait au moins une demi période entre 0 et a , c'est-à-dire :

$$\begin{aligned} 2k_m a &= \pi \\ k_m &= \frac{1}{2a} \end{aligned} \quad (143)$$

Le premier zéro k_0 de la transformée de Fourier d'une fonction $f(x)$ à valeurs réelles positives ou nulles et à support borné $[-a, +a]$ est tel que :

$$k_0 \geq k_m \Rightarrow k_0 \geq \frac{1}{2a} \quad (144)$$

D'autre part la réponse impulsionnelle du système à une dimension est une fonction porte $\Pi_b(x)$ telle que :

$$\Pi_b(x) = \begin{cases} 1/2b & \text{si } |x| < b \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (145)$$

Sa transformée de Fourier, $TF_{\Pi b}(k)$:

$$TF_{\Pi b}(k) = \frac{\sin(2\pi kb)}{2\pi kb} \quad (146)$$

Le premier zéro de $TF_{\Pi b}(k)$ est $k=1/2b$.

Dans les conditions géométriques de l'imagerie pénombre, on a $b > a$. D'où on en déduit que $k < k_0$.

D'après le théorème précédent, on en déduit que $Z_A < Z_O$.

En prenant la transformée de Fourier de l'équation 133, il vient :

$$TF_I = TF_O \cdot TF_A \quad (147)$$

le premier passage à zéro de TF_I , est égal au premier passage à zéro de TF_A . Si on note k_0 sa position, il vient :

$$TF_I(k_0) = 0 \Rightarrow TF_A(k_0) = 0 \quad (148)$$

en utilisant 134, on en déduit le rayon de l'image du diaphragme a. Il est donc possible de reconstruire l'image de A sans avoir aucune information a priori sur les dimensions du diaphragme.

On rappelle le théorème d'échantillonnage :

Pour reconstruire, le spectre $TF(k)$ d'une fonction $f(x)$ d'étendue spatiale $2xm$, $[-xm, +xm]$, il suffit d'échantillonner son spectre avec un pas en fréquence dk tel que $dk \leq 1/2xm$.

L'image O a une étendue spatiale $T1$. Pour échantillonner TF_O , il faut un pas en fréquence dk tel que $dk \leq 1/T1$. TF_A étant une fonction du type $J1(r)/r$ dont les extrema sont équidistants entre eux de $e=1/D1 < 1/T1$. Il suffit donc de calculer $TF_O = TF_I \cdot 1/TF_A$ sur les extrema de TF_A . Ce résultat est particulièrement intéressant car en ne filtrant que sur les extrema de TF_A et leurs voisinages, on évite de filtrer par des valeurs trop faibles, ce qui aurait pour effet de bruite le spectre reconstruit de TF_O .

On calcule les extrema de $TF_A(k)$ sur des couronnes définies par $k'i=ki-0.1ki + k''i=ki+0.1ki$ où ki est la position du ième extremum de $TF_A(k)$. On calcule ensuite $TF_O(k)$ en filtrant $TF_I(k)$ par $1/TF_A(k)$ avec $1/TF_A(k)=0$ en dehors des couronnes.

Le calcul de la transformée de Fourier inverse de $TF_O(k)$ donne une première estimation de l'objet O. Une méthode de Gerchberg est ensuite appliquée pour améliorer l'image reconstruite de l'objet par interpolation du spectre $TF_O(k)$ en dehors des couronnes, avec application des contraintes de support et de positivité sur l'image reconstruite.

Afin que l'algorithme ainsi défini soit efficace, il est nécessaire de définir le nombre d'extrema du filtre car celui-ci définit la fréquence de coupure du filtre. Si cette fréquence est trop élevée, on déconvolue du bruit. Si au contraire, cette fréquence est trop basse, on ne déconvolue pas et l'image obtenue est une version filtrée passe bas de l'image réelle. On définit pour cela un critère définissant la borne supérieure du nombre d'extrema à ne pas dépasser.

Si $f(x,y)$ est une fonction à valeurs réelles positives ou nulles et à support borné, on a :

$$ReTF_f(k_x, k_y) = \iint \cos(2\pi(k_x x + k_y y))f(x, y)dx dy \quad (149)$$

d'où on déduit :

$$Max[ReTF_f(k_x, k_y)] = ReTF_f(k_x = 0, k_y = 0) = TF_f(k_x = 0, k_y = 0) \quad (150)$$

En utilisant 150 pour l'image I, il vient :

$$\begin{aligned}
\text{Max}[\text{ReTF}_I(k_x, k_y)] &= \text{TF}_I(k_x = 0, k_y = 0) = \int_{-\infty}^{+\infty} \int_{-\infty}^{+\infty} I(x, y) dx dy \\
\text{Max}[\text{ReTF}_O(k_x, k_y)] &= \text{TF}_O(k_x = 0, k_y = 0) \\
&= \text{TF}_I(k_x = 0, k_y = 0) / \text{TF}_A(k_x = 0, k_y = 0)
\end{aligned} \tag{151}$$

La réponse impulsionnelle est normalisée :

$$\begin{aligned}
\text{TF}_A(0,0) &= 1 \\
|\text{TF}_A(k_x, k_y)| &\leq 1
\end{aligned} \tag{152}$$

On en déduit :

$$\text{Max}[\text{ReTF}_O(k_x, k_y)] = \text{TF}_O(k_x = 0, k_y = 0) = \text{TF}_I(k_x = 0, k_y = 0) \tag{153}$$

Si l'on note k_M la position du M ième extremum de $\text{TF}_A(k)$ et k_{M+j} la position du $(M+j)$ ième extremum tel que $k_M < k_{M+j}$, $j \geq 1$, on a :

$$|\text{TF}_A(k_{M+j})| = \left| \frac{J_1(2\pi a k_{M+j})}{\pi a k_{M+j}} \right| < |\text{TF}_A(k_M)| = \left| \frac{J_1(2\pi a k_M)}{\pi a k_M} \right| \tag{154}$$

Si après filtrage, on obtient :

$$\text{Max}[\text{ReTF}_O(k_x, k_y)] > \text{TF}_I(0,0) \tag{155}$$

L'équation 153 n'est pas vérifiée. Ceci indique que pour la fréquence de coupure choisie, le nombre d'extrema est trop élevé et que l'on déconvolue du bruit. La borne supérieure M du nombre d'extrema peut se définir de la manière suivante :

M est un nombre entier positif tel que :

$$\begin{aligned}
\text{Max}[\text{ReTF}_O(k_x, k_y)]_M &= \text{TF}_I(k_x = 0, k_y = 0) \\
\text{et} \\
\text{Max}[\text{ReTF}_O(k_x, k_y)]_{M+1} &> \text{TF}_I(k_x = 0, k_y = 0)
\end{aligned} \tag{156}$$

où la notation $/M$ indique que le filtre est composé de M extrema.

VIII-G L'analyse en composantes principales et son utilisation dans le problème de la séparation de sources

L'analyse en composantes principales (ACP) est une discipline regroupant des méthodes de statistique multi variée, qui consiste, à partir d'observations vectorielles, d'extraire des composantes linéaires, dites composantes principales, qui sont non corrélées. D'un point de vue géométrique, étant donné un nuage de n points en dimension d , l'ACP consiste à trouver la direction de l'espace qui porte la plus grande part de la dispersion totale; puis la direction orthogonale à la précédente portant la deuxième plus grande part de la dispersion totale, et ainsi de suite. Du point de vue géométrique, c'est un simple changement de base, qui conduit à une nouvelle représentation dans des directions correspondant à des variables décorrélées.

L'exemple souvent cité dans la littérature du « cocktail party » illustre bien le lien entre l'ACP et le problème de la séparation des sources: on enregistre n conversations simultanées en plaçant n microphones bien répartis dans la pièce, chacun enregistrant une superposition de toutes les conversations, mais un peu plus nettement celles qui se trouvent à proximité directe. Le problème est d'isoler chacun des discours pour comprendre ce qui s'est dit. De très nombreux domaines d'applications tels que l'imagerie numérique, l'astrophysique, l'économie, la finance, la thermodynamique statistique ou encore les biotechnologies ont recours à ce type de modèle inverse, ayant pour but d'identifier des facteurs explicatifs non corrélés et à en extraire une accumulation d'indicateurs éventuellement très divers, et globalement liés au phénomène.

Le modèle se formule à minima de la façon suivante:

$$X=AS \quad (25)$$

Modèle dans lequel X est une variable aléatoire sur \mathbb{R}^d $d \geq 2$, A est une matrice carrée inversible et S une variable aléatoire dont les composantes sont non corrélées. L'objectif de l'analyse en composantes principales est d'estimer la matrice A pour atteindre $\{S_1, \dots, S_n\}$, à partir de la donnée d'un échantillon $\{X_1, \dots, X_n\}$ de points identiquement distribués selon la loi de X et tels que X_i et X_j soient indépendants pour $i \neq j$, mais tels que les composantes X_{i1}, \dots, X_{id} d'une même observation ne soient a priori pas mutuellement décorrélées.

La matrice A restituée par l'ACP est de dimension $k \leq \min\{n, d\}$, qui est la dimension du sous-espace dans lequel les observations sont le mieux représentées.

Une des propriétés fondamentales des composantes principales est de pouvoir être classée par ordre décroissant d'importance. Ainsi le meilleur sous-espace de dimension $k \leq \min\{n, d\}$ dans lequel les observations seront le mieux représentées est celui engendré par les k premières composantes principales. Autrement dit, les sous-espaces de projection optimale sont emboîtés, ce qui est une propriété forte. Généralement dans le cas de la séparation de source, le nombre d'observations p est différent du nombre de sources n . Si la différence entre le nombre de sources et le nombre d'observations est positif, le nombre de sources est supérieur au nombre d'observations. Le problème est alors sous-déterminé et difficile à résoudre du fait que l'inversion matricielle est impossible. Si par contre la différence entre le nombre de sources et d'observations $n < p$, le problème est surdéterminé. A est une matrice de mélange de dimension $n \times p$. La classe de mélange la plus largement étudiée est la classe des mélanges linéaires c'est-à-dire celle où les observations s'écrivent comme des combinaisons linéaires des sources. Dans ce cas, si A' est une estimée de A , la recombinaison de sources s'écrit:

$$\begin{aligned}
 Y &= A'^{-1}.X \\
 Y &= A'^{-1}.A.S \\
 Y &\approx S
 \end{aligned}
 \tag{26}$$

Les grandes familles de méthodes utilisées pour résoudre le problème de la séparation de sources sont:

- L'analyse en composantes principales (ACP).
- L'analyse en composantes indépendantes (ACI) qui suppose que les sources ne soient pas seulement décorrélées mais statistiquement indépendantes.
- La factorisation en matrices non négatives (NMF)